

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI DIET TINGGI LEMAK DAN
MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG) TERHADAP PEMBULUH DARAH
MEDULA OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI DIET TINGGI LEMAK DAN MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG) TERHADAP PEMBULUH DARAH MEDULA OVARIUM TIKUS (*Rattus novergicus*)

Oleh:

Firsthascika Cleverin Putri

NIM 145070601111043

Telah diuji pada

Hari: Kamis

Tanggal: 25 Januari 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Yhusi Karina R. M.Sc
NIK. 20140580051212001

Pembimbing I/Penguji-II

dr. Nia Kurnianingsih M.Biomed
NIK. 2011068404072001

Pembimbing II/Penguji-III

dr. Ni Luh Putu H.M. SpA. M. Biomed
NIK. 2013037502282001

Mengetahui,



Linda Ratna Wati, SST., M.Kes
MP. 198409132014042001



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Firsthascika Cleverin Putri

NIM : 145070601111043

Program Studi: S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Januari 2018



(Firsthascika Cleverin Putri)
NIM 145070601111043

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala kekuatan dan kemudahan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penyusunan tugas akhir yang berjudul “Pengaruh Pemberian Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Pembuluh Darah Medula Ovarium Tikus Putih (*Rattus novergicus*)”.

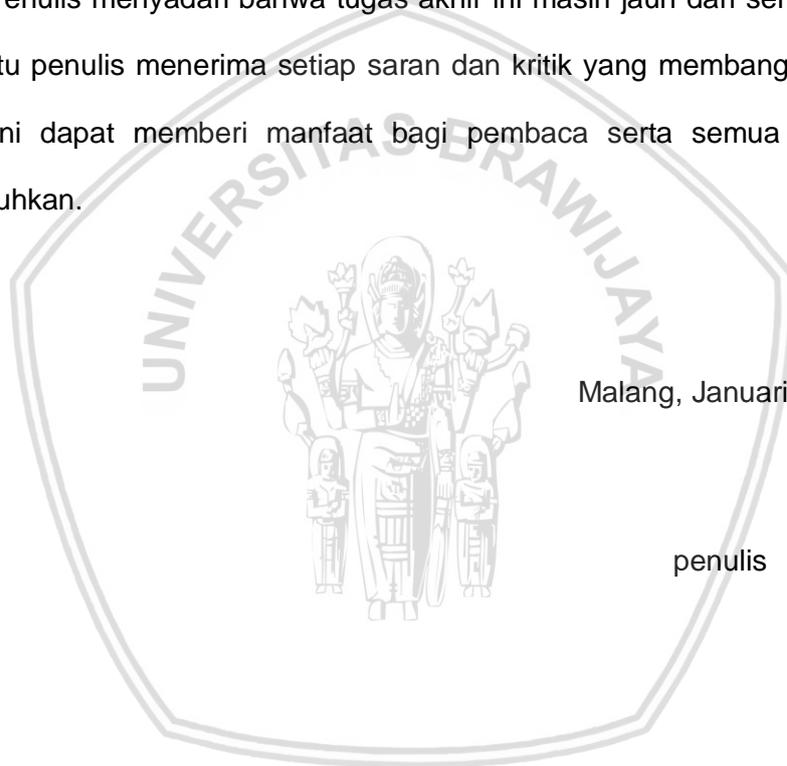
Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa tingkat konsumsi masyarakat terhadap makanan yang mengandung MSG dan tinggi lemak semakin meningkat. Monosodium glutamat dan diet tinggi lemak berpengaruh terhadap sistem reproduksi terutama pada wanita. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berpengaruh terhadap pembuluh darah medula ovarium, terutama terjadinya kongesti pembuluh darah.

Dengan selesainya tugas akhir ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. dr. Nia Kurnianingsih, M. Biomed selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, masukan dan saran sehingga tulisan ini dapat diselesaikan.
2. dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti, SpA, M.Biomed selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, masukan dan saran sehingga tulisan ini dapat diselesaikan.
3. dr. Yhusi Karina Riskawati, MSc. Selaku dosen penguji I yang telah memberikan bimbingan, masukan dan saran sehingga tulisan ini dapat diselesaikan.

4. Linda Ratna Wati, SST., M.Kes selaku Ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis menerima setiap saran dan kritik yang membangun. Semoga tulisan ini dapat memberi manfaat bagi pembaca serta semua pihak yang membutuhkan.



Malang, Januari 2018

penulis

ABSTRAK

Putri, Firsthascika, Cleverin. 2018. *Pengaruh Pemberian Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Pembuluh Darah Medula Ovarium Tikus Putih (*Rattus novvergicus*)*. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: dr. Nia Kurnianingsih, M.Biomed dan dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti, SpA., M.Biomed.

Konsumsi diet tinggi lemak dapat berpengaruh terhadap berbagai masalah kesehatan seperti kesehatan reproduksi, begitu juga dengan Monosodium Glutamat (MSG). Monosodium glutamat dapat meningkatkan palatabilitas makanan, sehingga dapat berpengaruh terhadap tingkat konsumsi diet tinggi lemak. Oleh sebab itu, dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap pembuluh darah medula ovarium tikus. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental pada tikus *Rattus novvergicus* usia 6-8 minggu dengan berat 140-200 gram. Terdapat 24 tikus betina, kemudian diacak menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif (pakan normal), kontrol positif 1 (Diet Tinggi Lemak/DTL), kontrol positif 2 (MSG 0,7 mg/gBB dan diet normal), kelompok perlakuan 1 (DTL dan MSG 0,05 mg/gBB), kelompok perlakuan 2 (DTL dan MSG 0,2 mg/gBB), dan kelompok perlakuan 3 (DTL dan MSG 0,35 mg/gBB). Perlakuan diberikan selama 56 hari kemudian dilakukan pembedahan apabila sudah mencapai siklus proestrus. Setelah pembedahan dilakukan pembuatan preparat dengan pengecatan Hematoksin Eosin (HE) untuk dilihat gambaran histopatologi ovarium. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi DTL dan MSG berpengaruh secara signifikan terhadap kongesti pembuluh darah medula ovarium dengan pengamatan histologi jika dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan DTL dan MSG maupun yang diberikan diet tinggi lemak saja atau MSG saja. Hasil statistik *one way* ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan pada diameter arteri ovarium ($p = 0,000$) dan diameter vena ovarium ($p = 0,000$) jika dibandingkan dengan kelompok yang tidak mendapatkan diet tinggi lemak maupun MSG. Sedangkan, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif hasilnya juga signifikan pada diameter arteri ($p = 0,002$) dan pada diameter vena ovarium ($p = 0,001$). Pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dapat berpengaruh terhadap diameter pembuluh darah medula ovarium.

Kata kunci: diet tinggi lemak, Monosodium Glutamat (MSG), obesitas, kongesti pembuluh darah, ovarium.

ABSTRACT

Putri, Firsthascika, Cleverin. 2018. *Effects of Combination High Fat Diet and Monosodium Glutamate (MSG) on The Diameter Vessels of Medulla Ovarium Wistar Rats (Rattus novergicus)*. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University, Malang. Supervisor: (1) dr. Nia Kurnianingsih M.Biomed, (2) dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti SpA., M.Biomed.

Nowadays, the higher use of fast food containing high fat diet and the addition of food additives such as Monosodium Glutamate (MSG) that can affect health, especially reproductive health. Consumption of a high fat diet and MSG can affect the ovaries that affect the reproductive system as evidenced in the study in *Rattus novergicus* age 6 to 8 weeks who have weight 140-200 grams. Twenty-four female rats were randomized to 6 treatment groups: negative control (normal diet), positive control 1 (high fat diet), positive control 2 (was given 0.7 mg/gBB MSG and normal diet), treatment group 1 (high fat diet and MSG dose 0.05 mg/gBB), treatment group 2 (high fat diet and MSG dose 0.2 mg/gBB), and treatment group 3 (high fat diet and MSG dose 0.35 mg/gBB). Treatment is given for 56 days and then performed surgery when it reaches the proestrus cycle. Ovarian congested blood vessels was examined by Hematoxylin Eosin staining and then observed with a confocal microscop. The results of this study indicate that the combination of a diet high in fat and MSG significantly influence the congestion of ovarian medullary vessels with ovarian histological observations when compared with mice not given high fat diet and MSG or those given a high fat diet or MSG only. One-way ANOVA test showed the mean number of diameter of arteril blood vessels ($p = 0.000$) and diameter of vein blood vessels ($p = 0.000$) increased significantly when compared with the negative control. Whereas, when compared with positive control group the results were also significant in ovarian arterial diameter ($p = 0.002$) and on ovarian vein diameter ($p = 0.001$). The occurrence of widening or congestion of the medullary vessels of this ovary can lead to infertility. Prolong high fat diet and MSG exposure may increase diameter of blood vessels medulla ovary.

Keyword: High fat diet, Monosodium Glutamate (MSG), obesity, congestion blood vessels, ovary.

DAFTAR ISI

Halaman

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	vi
<i>Abstract</i>	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Singkatan	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Akademik	6
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Monosodium Glutamat (MSG)	8
2.2 Metabolisme Asam Glutamat	9
2.3 Pengaruh Monosodium Glutamat pada Sistem Organ	11
2.4 Diet Tinggi Lemak	17
2.5 Obesitas	20
2.5.1 Definisi Obesitas	20
2.5.2 Penyebab Obesitas	23
2.6 Ovarium	24
2.6.1 Anatomi Ovarium	24
2.6.2 Histologi Ovarium.....	25
2.6.3 Pembuluh Darah Medula Ovarium	28
2.7 Kongesti Pembuluh Darah Medula Ovarium	29
2.8 Hewan Coba	35
2.8.1 Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>).....	35
2.8.2 Sistem Reproduksi	36
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	40
3.2 Hipotesis Penelitian	43
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	44
4.2 Populasi dan Sampel.....	44



4.2.1	Kriteria Inklusi	44
4.2.2	Kriteria Eksklusi	44
4.2.3	Jumlah Sampel	45
4.3	Variabel Penelitian	45
4.3.1	Variabel Tergantung	45
4.3.2	Variabel Bebas	45
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	46
4.5	Alat dan Bahan Penelitian	46
4.5.1	Alat	46
4.5.1.1	Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba	46
4.5.1.2	Alat Pembuat dan Pemberian Bahan Makanan Hewan Coba	46
4.5.1.3	Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba	46
4.5.1.4	Alat Pemeriksaan Histologi	47
4.5.1.5	Alat Bedah Hewan Coba	47
4.5.2	Bahan 47	
4.5.2.1	Bahan Makanan Tikus	47
4.5.2.2	Bahan untuk Pembedahan Hewan Coba	47
4.5.2.3	Bahan Pengamatan Histologi	48
4.6	Definisi Istilah/Operasional	49
4.7	Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data	50
4.7.1	Pembuatan Diet Normal	50
4.7.2	Pembuatan Diet Tinggi Lemak	50
4.7.3	Pemaparan MSG pada Tikus	51
4.7.4	Perlakuan terhadap Tikus	51
4.7.4.1	Adaptasi Hewan Coba	51
4.7.4.2	Penentuan Kelompok Perlakuan	51
4.7.4.3	Proses Pemeliharaan Hewan Coba	53
4.7.4.4	Penentuan Fase Estrus dan Waktu Pembedahan	54
4.7.5	Prosedur Pengerjaan Preparat Histo Patologi	54
4.7.6	Pengamatan Histologi Ovarium Tikus dan Kongesti Pembuluh Darah Medula Ovarium	56
4.8	Analisis Data	56
4.9	Etik Penelitian	57
4.10	Skema Alur Penelitian	60
 BAB 5. HASIL PENELITIAN		
5.1	Hasil Penelitian	61
5.2	Hasil Pengukuran Diameter Pembuluh Darah Arteri Ovarium	62
5.3	Hasil Pengukuran Diameter Pembuluh Darah Vena Ovarium	67
 BAB 6. PEMBAHASAN		
6.1	Pembahasan	73



BAB 7. PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	79
7.2 Saran.....	79
Daftar Pustaka	80



DAFTAR TABEL

Halaman

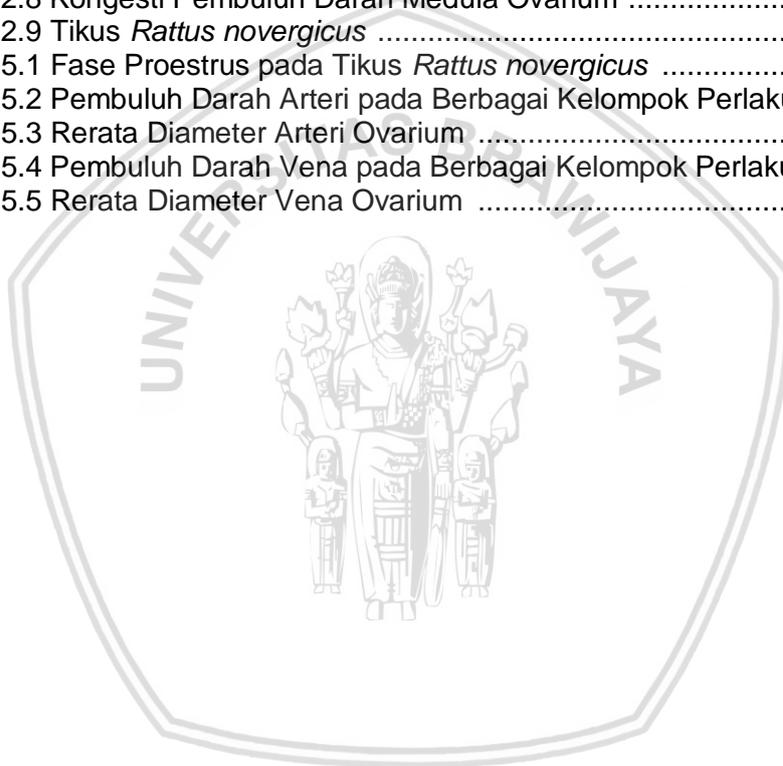
Tabel 2.1 Komposisi Diet Tinggi Lemak	20
Tabel 2.2 Klasifikasi Status Berat Badan Berdasarkan IMT	21
Tabel 4.1 Definisi Istilah/Operasional Penelitian	49
Tabel 4.2 Komposisi untuk 1 Kg Pakan Normal	50
Tabel 4.3 Komposisi untuk 2,5 Kg Diet Tinggi Lemak	50
Tabel 5.1 Uji Homogenitas Ragam Diameter Arteri.....	65
Tabel 5.2 Hasil Uji LSD Diameter Pembuluh Darah Arteri Ovarium	66
Tabel 5.3 Uji Homogenitas Ragam Diameter Vena.....	70
Tabel 5.4 Hasil Uji LSD Diameter Pembuluh Darah Vena Ovarium.....	70



DAFTAR GAMBAR

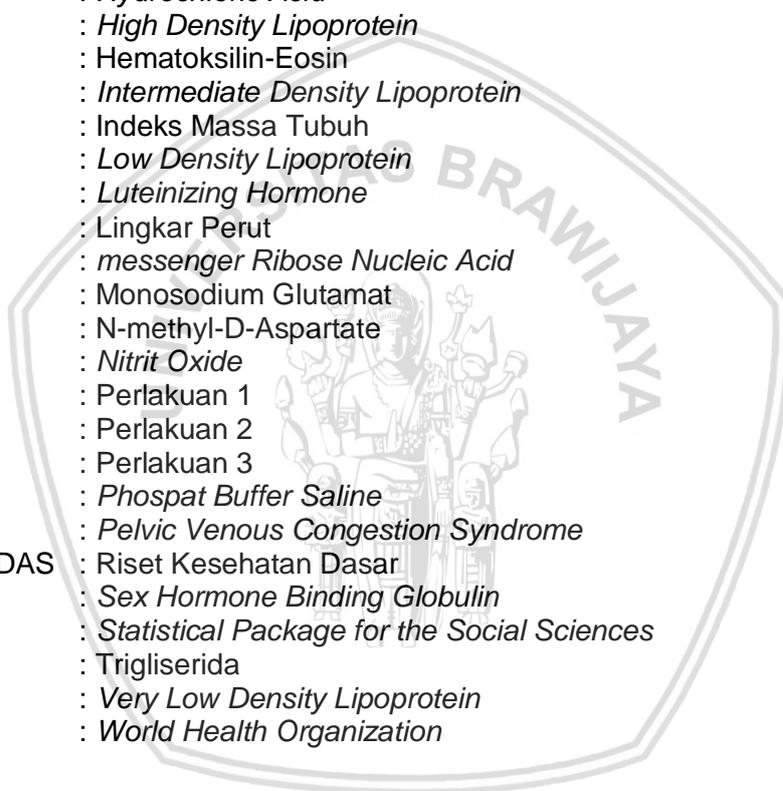
Halaman

Gambar 2.1 Struktur Kimia Asam Glutamat dan Monosodium Glutamat	9
Gambar 2.2 Kecenderungan Prevalensi Obesitas (IMT > 25) pada Perempuan Umur > 18 Tahun	22
Gambar 2.3 Anatomi Ovarium	25
Gambar 2.4 Histologi Ovarium	27
Gambar 2.5 Gambaran Mikro Ovarium	28
Gambar 2.6 Histologi Pembuluh Darah.....	29
Gambar 2.7 Gambaran Pembuluh Darah Normal pada Medula Ovarium	31
Gambar 2.8 Kongesti Pembuluh Darah Medula Ovarium	32
Gambar 2.9 Tikus <i>Rattus novergicus</i>	36
Gambar 5.1 Fase Proestrus pada Tikus <i>Rattus novergicus</i>	62
Gambar 5.2 Pembuluh Darah Arteri pada Berbagai Kelompok Perlakuan	63
Gambar 5.3 Rerata Diameter Arteri Ovarium	64
Gambar 5.4 Pembuluh Darah Vena pada Berbagai Kelompok Perlakuan	68
Gambar 5.5 Rerata Diameter Vena Ovarium	69



DAFTAR SINGKATAN

AMPA	: Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
CMC	: <i>Carboxymethyl Cellulose</i>
DTL	: Diet Tinggi Lemak
ER- α	: <i>Estrogen Receptor α</i>
ER- β	: <i>Estrogen Receptor β</i>
FDL	: <i>Fatty Liver Disease</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GABA	: <i>Gamma Ammino Butiric Acid</i>
HCl	: <i>Hydrochloric Acid</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HE	: Hematoksin-Eosin
IDL	: <i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
IMT	: Indeks Massa Tubuh
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
LP	: Lingkar Perut
mRNA	: <i>messenger Ribose Nucleic Acid</i>
MSG	: Monosodium Glutamat
NMDA	: N-methyl-D-Aspartate
NO	: <i>Nitrit Oxide</i>
P1	: Perlakuan 1
P2	: Perlakuan 2
P3	: Perlakuan 3
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
PVCS	: <i>Pelvic Venous Congestion Syndrome</i>
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
SHBG	: <i>Sex Hormone Binding Globulin</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TG	: Trigliserida
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Etik Penelitian	87
Lampiran 2 Data Diameter Pembuluh Darah Ovarium per Lapang Pandang	88
Lampiran 3 Data Penelitian.....	90
Lampiran 4 Uji Prasyarat Normalitas Data dengan Perangkat SPSS	91
Lampiran 5 Uji Prasyarat Homogenitas Ragam dengan Perangkat SPSS	93
Lampiran 6 Hasil Uji <i>One Way</i> ANOVA dengan perangkat SPSS	94
Lampiran 7 <i>Post Hoc</i> Test dengan Perangkat SPSS	95
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian.....	99



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

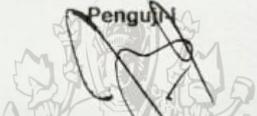
PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI DIET TINGGI LEMAK DAN MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG) TERHADAP PEMBULUH DARAH MEDULA OVARIUM TIKUS (*Rattus novergicus*)

Oleh:

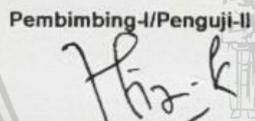
Firsthascika Cleverin Putri
NIM 145070601111043

Telah diuji pada
Hari: Kamis
Tanggal: 25 Januari 2018
dan dinyatakan lulus oleh:

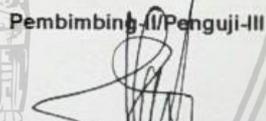
Penguji I


dr. Yhusi Karina R. M.Sc
NIK. 20140580051212001

Pembimbing-I/Penguji-II


dr. Nia Kurnianingrum M.Biomed
NIK. 2011068404072001

Pembimbing-II/Penguji-III


dr. Ni Luh Putu H.M. SpA. M. Biomed
NIK. 2013037502282001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1/Kebidanan


Linda Ratna Wati, SST., M.Kes
MP. 198409132014042001



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kesehatan individu bisa dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti genetik, lingkungan dan gaya hidup. Gaya hidup dapat mempengaruhi sistem reproduksi wanita, salah satunya berhubungan dengan infertilitas. Saat ini infertilitas adalah masalah medis yang sangat nyata dari sistem reproduksi terutama pada wanita. Angka kejadian dari infertilitas bisa mencapai 40% sampai 50% dari pasangan. Menurut *World Health Organization* (WHO), faktor-faktor yang bertanggung jawab untuk terjadinya infertilitas pada perempuan adalah faktor tuba sebesar 36%, gangguan ovulasi 33%, dan endometriosis 6% serta faktor yang tidak diketahui penyebabnya sebesar 40% (Abbasi, *et al.*, 2016). Gangguan pada sistem reproduksi juga bisa disebabkan oleh faktor lingkungan berbahaya seperti bahan kimia, polutan industri dan makanan. Zat aditif pada makanan juga berpengaruh terhadap kesehatan reproduksi, salah satunya adalah Monosodium Glutamat (MSG) (Ali, *et al.*, 2014).

Monosodium glutamat terdiri dari 78% asam glutamat, 22% sodium, dan air. Glutamat merupakan salah satu asam amino yang paling umum ditemukan di alam dan merupakan komponen utama dari banyak protein dan peptida dari sebagian besar jaringan. Glutamat juga diproduksi di dalam tubuh dan memainkan peran penting dalam metabolisme tubuh manusia (Alalwani, 2013).

Monosodium glutamat adalah salah satu zat aditif makanan yang paling banyak digunakan di dunia. Penggunaan MSG masih menjadi kontroversi global

terkait keamanan penggunaannya (Khaled, *et al.*, 2015). Monosodium glutamat dapat meningkatkan cita rasa pada makanan dan menghasilkan rasa yang tidak dapat diberikan oleh makanan lain. Asupan rata-rata MSG adalah 580 mg/hari untuk masing-masing populasi umum dan mencapai 4,68 g/hari pada penggunaan yang ekstrim. Diperkirakan rata-rata harian asupan MSG pada negara-negara industri adalah 0,3-1,0 g per hari, tetapi tergantung pada konten MSG pada makanan dan tergantung preferensi selera individu (Oladipo, *et al.*, 2015).

Perhatian akan bahaya monosodium glutamat telah meningkat dalam beberapa tahun terakhir. Monosodium glutamat yang biasa digunakan sebagai zat aditif makanan memiliki peran penting yang berkaitan dengan toksisitas terhadap sistem reproduksi bahkan dapat menyebabkan infertilitas baik pada laki-laki maupun perempuan (Oladipo, *et al.*, 2015). Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa MSG dalam dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan inti hipotalamus dan gangguan aksis hipotalamus-hipofisis (El-Fattah, *et al.*, 2016). Monosodium glutamat dapat mengubah kontrol sel-sel saraf yang berhubungan dengan sekresi hormone reproduksi melalui mekanisme pengaturan hipotalamus-hipofisis-gonad yang kemudian dapat merusak sel-sel saraf hipotalamus. Gangguan hormonal dapat menyebabkan gangguan dalam proses perkembangan dan pembentukan sel benih (ovum) melalui proses oogenesis pada ovarium. Ovarium merupakan organ reproduksi manusia yang berperan dalam menghasilkan berbagai hormone steroid dan hormon peptida seperti estrogen dan progesterone yang berperan penting dalam sistem reproduksi wanita. Ketika terjadi abnormalitas fungsi ovarium, maka dapat menyebabkan gangguan pada proses ovulasi yang dapat berdampak pada ketidaksuburan

(infertilitas) (Mustafa, *et al.*, 2015). Percobaan lain dilakukan pada tikus betina yang diinduksi dengan MSG ditemukan hasil bahwa terjadi penambahan berat pada ovarium, penurunan jumlah dari folikel primer, terjadinya degenerasi pada sel granulosa, dan peningkatan kongesti vaskular pada medula ovarium (Abbasi, *et al.*, 2016). Percobaan lain juga menunjukkan adanya abnormalitas pada ovarium, MSG diinduksikan selama 14 hari pada tikus betina *Swiss albino* usia 6-10 minggu dan hasilnya adalah adanya penurunan jumlah folikel primer maupun sekunder, peningkatan atresi folikel, vakuolasi pada folikel, dan juga terjadi kongesti pembuluh darah pada medula ovarium (Mustafa, *et al.*, 2015).

Selain monosodium glutamat, faktor gaya hidup dan pola makan yang sudah menjadi kebiasaan dan dapat menjadi sumber penyakit adalah makanan cepat saji yang tinggi lemak. Gizi merupakan masalah yang serius, diet seseorang bisa berpengaruh terhadap kesehatan terutama pada orang yang sering mengonsumsi makanan cepat saji yang tidak diimbangi dengan konsumsi sayuran, buah-buahan serta produk susu (Savcheniuk, *et al.*, 2014). Salah satu masalah kesehatan dari pola makan yang kurang baik dan sedang banyak terjadi adalah obesitas. Obesitas telah menjadi masalah kesehatan global karena dampak negatif pada kesehatan dan kontribusi terhadap morbiditas dan mortalitas. Prevalensi obesitas terus meningkat, studi epidemiologi menunjukkan bahwa obesitas meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular, diabetes tipe II, hipertensi, gangguan metabolik, serta gangguan fungsi reproduksi. Terdapat hubungan yang jelas antara keseimbangan energi dan reproduksi, asupan energi yang berlebihan bisa menyebabkan kesuburan pada pria maupun wanita terganggu (Zhou, *et al.*, 2014). Diperkirakan bahwa terdapat 13 miliar orang kelebihan berat badan atau obesitas. Banyak efek

negatif yang ditimbulkan terutama terhadap kesehatan reproduksi baik pada wanita maupun pria (Ogbuji, 2010).

Perempuan memiliki risiko yang lebih tinggi terhadap obesitas seiring dengan peningkatan usia. Sementara, kebanyakan wanita yang obesitas mengalami ketidaksuburan. Wanita yang mengalami obesitas terbukti memiliki angka kemungkinan menderita infertilitas tiga kali lebih besar dibandingkan dengan wanita yang memiliki Indeks Massa Tubuh (IMT) normal. Terdapat penelitian yang membuktikan bahwa diet tinggi lemak dapat menyebabkan obesitas dan berpengaruh terhadap ukuran oosit. Penurunan jumlah oosit ditemukan pada perempuan dengan berat badan berlebih (Sohrabi, *et al.*, 2015). Penelitian lain membuktikan bahwa gangguan pada fungsi ovarium yang dikaitkan karena diet tinggi lemak yaitu dapat menurunkan kualitas oosit, mengurangi tingkat kelangsungan hidup blastosit, dan menyebabkan abnormalitas diferensiasi selular embrio. Dalam penelitian lain yang dilakukan oleh Singh (2008) mengamati bahwa obesitas dikaitkan dengan lebih sedikitnya oosit normal yang berhasil dibuahi, kadar estradiol yang lebih rendah, keberhasilan kehamilan dan tingkat kelahiran hidup yang lebih rendah.

Monosodium glutamat dapat meningkatkan palatabilitas makanan yang dapat mengganggu sinyal hipotalamus dan meningkatkan nafsu makan, sehingga berpengaruh juga terhadap tingginya tingkat konsumsi diet tinggi lemak yang dapat menyebabkan obesitas dan berpengaruh terhadap kesehatan seseorang (Hermanussen dan Tresguerres, 2003). Melihat luas dan bebasnya pemakaian MSG dalam kehidupan sehari-hari pada makanan, serta banyaknya tingkat konsumsi makanan yang mengandung tinggi lemak yang berdasarkan bukti-bukti penelitian bahwa MSG dan diet tinggi lemak berpengaruh terhadap

sistem reproduksi terutama pada wanita. Pada dosis tertentu, baik pemberian MSG maupun diet tinggi lemak sama-sama diketahui sebagai faktor yang dapat mengganggu sistem reproduksi. Penelitian untuk mengetahui efek yang dapat ditimbulkan oleh MSG dan diet tinggi lemak terhadap sistem reproduksi pada hewan coba sudah banyak dilakukan, tetapi bagaimana ketika kombinasi MSG dan diet tinggi lemak diberikan pada hewan coba untuk mengetahui pengaruhnya terhadap sistem reproduksi masih belum banyak diteliti. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti “Pengaruh Pemberian Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Pembuluh Darah Medula Ovarium Tikus Putih (*Rattus novergicus*)” sebagai upaya pengembangan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap sistem reproduksi wanita, dalam penelitian ini terutama adalah terjadinya kongesti pembuluh darah arteri dan vena pada medula ovarium. Oleh karena terjadinya kongesti pembuluh darah dapat menyebabkan aliran darah menuju korteks ovarium terganggu sehingga mempengaruhi fase folikuler dan diketahui dapat menyebabkan anovulasi pada wanita dan mengganggu siklus menstruasi (Junqueira dan Carneiro, 2007).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimana pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap pembuluh darah medula ovarium tikus putih (*Rattus novergicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap pembuluh darah medula ovarium tikus putih (*Rattus novergicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan dosis MSG yang dikombinasikan dengan diet tinggi lemak pada manusia jika dikonversikan ke dosis yang ekuivalen untuk hewan (tikus) dapat menimbulkan efek pada pembuluh darah medula ovarium.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Menambah pengetahuan dalam bidang penelitian mengenai efek samping yang dapat ditimbulkan akibat pemberian diet tinggi lemak dan MSG terhadap pembuluh darah medula pada ovarium sistem reproduksi wanita.
2. Dapat digunakan sebagai literature penunjang untuk penelitian-penelitian berikutnya mengenai efek samping pemberian diet tinggi lemak dan MSG terhadap pembuluh darah medula pada ovarium.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Dengan adanya penelitian ini diharapkan agar masyarakat selalu waspada dan memperhatikan asupan makanan sehari-hari terutama makanan dengan kandungan lemak dan MSG yang tinggi guna mencegah munculnya dampak buruk terhadap gangguan system reproduksi.
2. Dengan adanya penelitian ini diharapkan agar bidan dapat memberikan komunikasi, edukasi, dan informasi yang tepat terhadap wanita, baik remaja

yang sudah memasuki masa pubertas maupun wanita dewasa agar memperhatikan asupan makanan sehari-hari guna mencegah munculnya dampak buruk terhadap gangguan sistem reproduksi.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

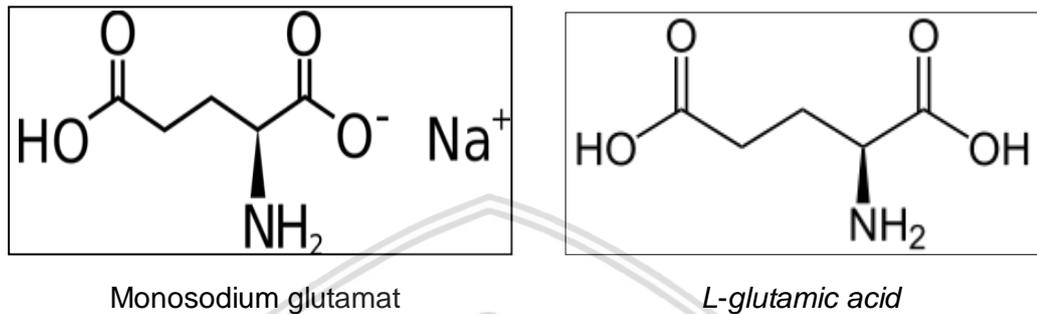
2.1 Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium Glutamat (MSG) adalah salah satu zat aditif makanan yang paling banyak digunakan di dunia sebagai bagian dari olahan makanan. Sebagai penambah rasa, meningkatkan rasa sedap pada makanan dan menghasilkan rasa yang tidak dapat diberikan oleh makanan lain yang dijelaskan dalam bahasa Jepang yaitu *umami* atau diterjemahkan menjadi gurih (Husarova dan Ostatnikova, 2013). Monosodium glutamat merupakan garam natrium dari asam glutamat yang mengandung 78% asam glutamat, 22% natrium, dan air. Adapun karakteristik dari monosodium glutamat adalah sebagai berikut:

Nama IUPAC	: Sodium 2-Aminopentanedioate
Rumus molekul	: $C_5H_8NO_4Na$
Massa molar	: 169,111 g/mol
Tampilan	: Serbuk kristal putih
Titik lebur	: 232°C (450°F; 505 K)
Kelarutan dalam air	: 74 g/100ml
Dosis letal	: 15800 mg/kg (oral, pada tikus) (Mustafa, <i>et al.</i> , 2015).

Glutamat adalah salah satu asam amino yang paling umum ditemukan di alam dan merupakan komponen utama dari banyak protein dan peptida dari sebagian besar jaringan. Hal ini ditemukan secara alami di semua sel hidup, terutama dalam bentuk terikat sebagai bagian dari protein. Hanya sebagian kecil glutamat dalam makanan yang berbentuk bebas, dan hanya glutamat bebas

yang dapat meningkatkan rasa gurih pada makanan. Glutamat juga diproduksi dalam tubuh dan memainkan peran penting dalam metabolisme tubuh manusia. (Mustafa, *et al.*, 2015).



Gambar 2.1 Struktur Kimia Asam Glutamat dan Monosodium Glutamat (MSG) (Hamed, 2009)

2.2 Metabolisme Asam Glutamat

Metabolisme asam amino non esensial termasuk glutamat menyebar luas di dalam jaringan tubuh. Terdapat 57% dari asam amino yang diabsorpsi dikonversikan menjadi urea melalui hati, 6% menjadi plasma protein, 23% absorpsi asam amino melalui sirkulasi umum sebagai asam amino bebas dan sisanya 14% diduga disimpan sementara di dalam hati sebagai protein hati atau enzim. Monosodium glutamat dimetabolisme di dalam tubuh sama seperti metabolisme asam glutamat. Asam amino dekarboksilat, glutamat dan aspartat menempati posisi unik dalam metabolisme perantara. Zat-zat tersebut memegang peranan penting dalam produksi energi, sintesis urea, sintesis glutathion dan sebagai neurotransmitter. Hal ini disebabkan karena sel-sel mengandung sejumlah besar glutamat bebas dan aspartat. Asam amino ini merupakan asam amino utama yang didapatkan di dalam mitokondria sel dan merupakan 50-70% dari total asam amino bebas (Walls, *et al.*, 2015).



Glutamat menjalankan beberapa fungsi penting dalam proses metabolisme di dalam tubuh, antara lain:

1) Substansi untuk sintesis protein

Glutamat sebagai salah satu asam amino yang banyak terdapat di dalam sumber alami. Diperkirakan 10-40% glutamat terkandung di dalam protein. *L-glutamic acid* merupakan bahan yang penting untuk sintesis protein. Asam glutamat memiliki karakter fisik dan kimia yang dapat menjadi struktur sekunder dari protein yang disebut rantai α (Walls, *et al.*, 2015).

2) Pasangan transaminasi dengan α -ketoglutarat

L-glutamat disintesis dari ammonia dan α -ketoglutarat dalam suatu reaksi yang dikatalisir oleh *L-glutamate dehydrogenase* (siklus asam sitrat). Reaksi ini penting dalam biosintesa seluruh asam amino. Glutamat yang diserap ditransaminasikan dengan piruvat dalam bentuk alanin. Alanin dari hasil transaminasi dari piruvat, oleh asam amino dekarboksilat menghasilkan α -ketoglutarat atau oksaloasetat. Glutamat yang lolos dari metabolisme mukosa, dibawa melalui vena portal ke hati. Sebagian glutamat dikonversikan oleh usus dan hati dalam bentuk glukosa dan laktat, kemudian dialirkan ke aliran darah perifer (Walls, *et al.*, 2015).

3) Prekursor glutamin

Glutamin dibentuk dari glutamat oleh glutamin sintetase. Ini juga merupakan reaksi yang sangat penting di dalam metabolisme asam amino. Amonia akan dikonversikan menjadi glutamin sebelum masuk ke dalam sirkulasi. Glutamat dan glutamin merupakan mata rantai karbon dan nitrogen di dalam proses metabolisme karbohidrat dan protein (Walls, *et al.*, 2015).

4) Neurotransmitter

Glutamat adalah transmitter mayor di otak, berfungsi sebagai mediator untuk menyampaikan transmisi post sinaptik. Selain itu glutamat juga berfungsi sebagai prekursor dari neurotransmitter *Gamma Ammino Butiric Acid* (GABA) (Walls, *et al.*, 2015).

2.3 Pengaruh Monosodium Glutamat pada Sistem Organ

Monosodium glutamat merupakan zat aditif makanan yang dapat meningkatkan nafsu makan dengan merangsang pusat nafsu makan. Namun saat ini masih diperdebatkan keamanan dan efek berbahayanya karena dapat mempengaruhi hampir setiap organ utama dalam tubuh. Studi pada hewan percobaan telah membuktikan efek toksik dari MSG pada berbagai organ yang berbeda, terutama meningkatkan stres oksidatif, toksisitas reproduksi, obesitas, asma, dan berbagai penyakit lainnya (Sharma dan Deshmukh, 2015).

Berikut beberapa efek dan potensi patologis dari MSG pada beberapa sistem dan organ yang berbeda.

1. Pengaruh pada sistem saraf pusat

Penelitian yang dilakukan pada hewan coba menunjukkan bahwa konsumsi MSG memiliki beberapa efek merusak otak kecil dan menyebabkan tremor, gerakan tidak stabil, serta ataksia. Bukti toksisitas lainnya menunjukkan bahwa hewan coba yang terpapar MSG menunjukkan adanya lesi pada otak dan gangguan neuroendokrin. Dalam penelitian lainnya, pemberian MSG secara oral dengan dosis 2,5 g/kg berat badan selama 14 hari pada hewan coba mengakibatkan degenerasi dan hilangnya kortikal neuron khususnya sel purkinje (Sharma dan Deshmukh, 2015).

Monosodium glutamat dalam dosis tinggi juga menyebabkan nekrosis neuron dalam inti arkuata hipotalamus pada tikus baru lahir. Selain menyebabkan efek toksik pada hipotalamus, efek lainnya adalah jumlah neuron lebih sedikit, lebih pendek dan kurang bercabang pada tikus usia 8-14 hari (Husarova dan Ostatnikova, 2013).

2. Obesitas dan gangguan metabolik

Monosodium glutamat yang diberikan pada masa neonatus pada hewan coba dapat menyebabkan gangguan toleransi glukosa dan resistensi insulin sehingga dapat menyebabkan obesitas saat usia pubertas. Hubungan antara monosodium glutamat dengan obesitas diawali dari meningkatnya palatabilitas makanan yang dapat mengganggu sinyal hipotalamus dan meningkatkan nafsu makan (Hermanussen dan Tresguerres, 2003).

Suatu penelitian yang dilakukan pada tikus berusia 19 minggu yang diberikan perlakuan injeksi subkutan MSG 2 mg/gBB tikus pada hari ke-2 dan ke-4 postnatal serta injeksi subkutan MSG 4 mg/gBB tikus pada hari ke-6, 8, dan 10 postnatal, menunjukkan hasil bahwa MSG meningkatkan ekspresi *messenger Ribose Nucleic Acid* (mRNA) pada interleukin-6, tumor nekrosis faktor- α , resistin, leptin dalam jaringan adiposa visceral, meningkatkan insulin, kadar leptin dalam serum, dan juga meningkatkan gangguan toleransi glukosa (Roman-Ramos, *et al.*, 2011). Selain itu, MSG juga bisa menyebabkan kerusakan pada hati. Monosodium glutamat meningkatkan ekspresi beberapa gen yang terlibat dalam diferensiasi adiposit, asam lemak bebas, trigliserida, insulin dan sintesis empedu. Dalam penelitian lainnya menyebutkan pemberian kombinasi MSG dengan diet lemak tak jenuh menyebabkan peningkatan adiposit sentral (penumpukan lemak di tubuh bagian bawah sekitar area perut) dan dislipidemia dibandingkan dengan

mencit yang hanya diberikan diet lemak tak jenuh saja atau MSG saja (Collison, *et al.*, 2010).

Dosis dan administrasi pemberian MSG pada hewan coba dirancang pada penelitian lain untuk menunjukkan terjadinya obesitas, gangguan metabolisme dan gangguan pada hepar. Hasil yang didapatkan terdapat perbedaan yang substansial dari efek MSG pada manusia dan pada hewan coba. Studi pada manusia menunjukkan hubungan yang positif antara MSG dengan obesitas, sedangkan berat badan pada hewan coba neonatal yang diinjeksi dengan MSG justru menurun dan tidak menjadi gemuk sampai pubertas. Monosodium glutamat memiliki efek yang berbeda pada fungsi jaringan adiposa pada setiap individu dan setiap usia (Dolnikoff, *et al.*, 2001).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan pada hewan coba menunjukkan bahwa pemberian MSG peroral dengan dosis yang mirip dengan asupan rata-rata pada manusia dan asupan untuk pengguna yang ekstrim menyebabkan gangguan pada metabolisme yang ditandai dengan peningkatan insulin, asam lemak dan trigliserida dalam serum, serta mengganggu fungsi kerja hati yang ditandai dengan peningkatan transaminase dan sintesis empedu. Namun, penerapan hasil penelitian ini untuk manusia sangat sulit karena adanya perbedaan mekanisme mana yang bisa berpotensi menyebabkan obesitas. Hal ini disebabkan makanan manusia jauh lebih beragam dan dikombinasikan dengan substansi-substansi lain, sehingga perlu penelitian lebih lanjut (Husarova dan Ostatnikova, 2013).

3. Sindrom Restoran Cina

Pada April 1968, Robert Ho Man Kwok menulis sebuah jurnal yang berjudul "Sindrom Restoran Cina". Gejala dari sindrom ini biasanya dimulai 15-20

menit setelah memakan makanan yang mengandung MSG, dan berlangsung sekitar dua jam. Gejala yang paling menonjol adalah mati rasa pada bagian belakang leher, secara bertahap akan menyebar ke kedua lengan dan punggung, lemah dan palpitasi. Sindrom ini juga dikenal sebagai kompleks gejala MSG. Gejala yang dikaitkan dengan sindrom restoran Cina ini tidak spesifik, meskipun banyak orang percaya bahwa MSG adalah penyebab gejala tersebut (Geha, *et al.*, 2000).

Sindrom restoran Cina adalah istilah yang diciptakan untuk menggambarkan terjadinya reaksi serius terhadap MSG, kasus pertamanya dilaporkan lebih dari 40 tahun yang lalu. Reaksi dari sindrom ini meliputi rasa sakit, mual, berkeringat, sesak di dada, gemetar, mati rasa atau rasa terbakar di dalam dan sekitar mulut, pembengkakan pada wajah, serta rasa nyeri pada kepala. Sekitar tahun 1970, penggunaan MSG telah meningkat dan perlu adanya pengendalian penggunaan MSG. Menurut penelitian epidemiologi yang dilakukan Amerika Serikat pada tahun tersebut menyebutkan sekitar 25-35% populasi tidak dapat mentoleransi tingkat penggunaan MSG pada makanan (Geha, *et al.*, 2000).

Monosodium glutamat diyakini terkait dengan terjadinya sindrom restoran Cina, namun dari studi yang terkait antara MSG dengan sindrom restoran Cina tidak memiliki desain eksperimental yang kuat, sehingga hasilnya tidak konsisten dan frekuensi respon terhadap asupan MSG tidak cukup tinggi untuk membawa bukti bahwa MSG merupakan pemicu sindrom restoran Cina. Selain itu, MSG identik dengan glutamat yang secara alami terkandung dalam banyak makanan, diserap dan dimetabolisme oleh tubuh dengan cara yang sama (Baad-Hansen, *et al.*, 2010).

4. Efek pada organ reproduksi

Percobaan pada tikus putih *Swiss albino* yang diberi MSG secara subkutan dengan dosis 2 mg/gBB selama periode perinatal di hari ke-2, 4, 6, 8 dan 10 menyebabkan peningkatan jumlah spermatisit primer di hari ke 75 kehidupan dibanding dengan kelompok kontrol. Pada tikus putih *Swiss albino* betina dengan dosis dan cara pemberian MSG yang sama dapat menyebabkan peningkatan jumlah folikel primer tetapi jumlah folikel matur tidak meningkat dalam jaringan ovarium pada hari ke-75 kehidupan. Dosis ganda yaitu MSG 4 mg/gBB diberikan pada saat yang sama pada tikus yang baru lahir mengakibatkan penurunan berat kelenjar hipofisis dan testis pada tikus jantan (Das dan Ghosh, 2010).

Percobaan lain pada tikus wistar betina dewasa diberi makanan yang mengandung MSG yaitu sebesar 0,04 mg/kgBB atau 0,08 mg/kgBB setiap hari memperlihatkan adanya perubahan patologis pada ovarium dan tuba fallopi. Monosodium glutamat menyebabkan hipertrofi sel dari follikuli teka, penghancuran membran basal dan vakuolasi sel dalam ovarium. Proses degeneratif dan atrofi diamati pada kedua dosis dengan perubahan lebih jelas pada kelompok perlakuan dengan MSG dosis lebih tinggi (0,08 mg/kgBB) (Eweka, *et al.*, 2010).

Percobaan yang dilakukan oleh Oladipo, *et al* (2015) juga membuktikan bahwa MSG dapat berpengaruh terhadap sistem reproduksi. Percobaan ini dilakukan pada tikus *Sprague dawley* betina dengan berat rata-rata sekitar 100-150 g untuk melihat perubahan pada ovariumnya. Pada tikus yang mendapatkan dosis MSG 0,20 g/kgBB selama 14 hari menunjukkan adanya perubahan pada ovariumnya yaitu adanya hipertrofi sel, jumlah folikel menurun, vakuolasi sel, dan

kongesti pada medula ovarium. Perubahan ini dapat lebih parah pada dosis yang lebih tinggi yang dapat menjadi penyebab infertilitas pada perempuan (Oladipo, *et al.*, 2014).

Penelitian lainnya menyebutkan bahwa monosodium glutamat menyebabkan terjadi disfungsi neuroendokrin pada tikus. Disfungsi neuroendokrin tersebut berhubungan dengan hilangnya reseptor estrogen terutama di hipotalamus, paling banyak ditemukan pada bagian *arcuata-median eminence*. Kelainan ini memungkinkan terjadinya gangguan pada sistem reproduksi pada tikus yang diberi MSG. Percobaan lainnya menyebutkan bahwa MSG dapat merusak nukleus arkuata di hipotalamus dan dapat menyebabkan penurunan densitas, volume, ukuran serta sekresi kortikotropin, tirotropin, *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) gonadotropin. Gangguan hormonal dapat menyebabkan gangguan dalam proses perkembangan dan pembentukan sel benih (ovum) melalui proses oogenesis. *Follicle stimulating hormone* berfungsi untuk merangsang perkembangan folikel di dalam ovarium sampai terjadi ovulasi dan LH berperan dalam perkembangan korpus luteum, mempertahankan dan merangsang korpus luteum untuk menghasilkan hormon progesteron. Keterbatasan LH dan FSH dalam menstimulasi organ target yakni ovarium dalam melakukan regulasi hormonal secara langsung dapat berakibat pada penurunan kadar estrogen dan progesteron. Penurunan kadar estrogen dapat mengurangi jumlah reseptor *Low Density Lipoprotein* (LDL) sehingga jumlah LDL akan meningkat, keadaan ini dapat mencetuskan kongesti pembuluh darah pada medula ovarium. Kelainan pada fungsi ovarium biasanya menyebabkan anovulasi dan bisa menyebabkan infertilitas pada perempuan (Eweka, *et al.*, 2011).

2.4 Diet Tinggi Lemak

Pada manusia, terdapat hubungan positif antara jumlah energi makanan yang didapat dari diet tinggi lemak dan proporsi populasi yang kelebihan berat badan. Begitu juga sebaliknya, penurunan tingkat konsumsi lemak makanan dapat menyebabkan penurunan berat badan. Keadaan ini juga dapat dialami oleh hewan penelitian. Hubungan ini, baik pada manusia atau pada hewan menunjukkan bahwa diet tinggi lemak dapat menyebabkan obesitas dan kandungan lemak dari makanan merupakan faktor penting dalam keseimbangan energi. Secara umum, diet yang mengandung lebih dari 30% energi total sebagai lemak dapat menyebabkan perkembangan obesitas (Husarova dan Ostatnikova, 2013).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk meninjau jumlah lemak yang dibutuhkan untuk menginduksi obesitas pada hewan penelitian. Kajian terbaru oleh Buettner (2007) menyimpulkan bahwa metode terbaik untuk menginduksi obesitas pada hewan adalah dengan menggunakan diet tinggi lemak yang mengandung lemak hewani 40% dari total energi, dengan sejumlah kecil asam lemak n-3 dan minyak tumbuhan yang kaya akan asam lemak n-6 dan n-9.

Diet tinggi lemak merupakan diet tinggi kolesterol yang dimodifikasi dengan formulasi khusus untuk menimbulkan keadaan dislipidemia, hiperkolesterolemik, dan obesitas pada hewan coba. Diet tinggi lemak merupakan salah satu penyebab yang dapat mengawali penumpukan massa lemak dan menyebabkan sindrom metabolik. Suatu penelitian yang menggunakan diet tinggi lemak untuk menghasilkan sejumlah 2,5 kg pakan memiliki komposisi yaitu tepung jagung (550 gram), gula pasir (457,5 gram), korsvet (275 gram), margarin (275 gram), minyak kedelai (130 gram), gelatin

(130 gram), kasein (335 gram), *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) (132,5 gram), vitamin dan mineral (25 butir), air (375 gram), asam kolat (5 gram) dan kuning telur (20 gram) (Handayani, 2012).

Tepung jagung merupakan bahan dasar untuk membuat pakan hewan percobaan. Pemakaian kolesterol, bertujuan untuk menginduksi peningkatan kadar LDL dalam darah. Srivastava, *et al* (2000) mengungkapkan bahwa untuk menginduksi aterosklerosis pada mencit diperlukan diet yang ditambah dengan asam kolat. Diet tersebut dapat merubah gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik, yaitu menurunkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dan meningkatkan *Low Density Lipoprotein* (LDL) plasma.

Penyebab dasar terjadinya kongesti pembuluh darah adalah adanya kolesterol dan lipoprotein khususnya LDL di dinding arteri. Secara normal, LDL mampu keluar dan masuk dari dinding arteri melalui endotel. *Low density lipoprotein* yang teroksidasi akan memicu penumpukan sel darah putih (monosit dan limfosit T) pada dinding pembuluh darah arteri yang selanjutnya akan memicu efek inflamasi (Rastini, *et al.*, 2010).

Diet tinggi lemak diketahui dapat menyebabkan pubertas dini. Menurut Feng, *et al.*, (2012) pemberian diet tinggi lemak dapat mengganggu sistem endokrin yaitu meningkatkan kadar LH yang dapat mempengaruhi terjadinya pubertas dini (*early onset of puberty*). Pada suatu penelitian, penyimpanan lipid yang berlebihan dalam tubuh dapat menginduksi gangguan fungsi ovarium seperti atresia folikel, apoptosis dan merusak steroidogenesis (Soulis, *et al.*, 2005).

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan hiperlipidemia ditandai dengan meningkatnya kadar kolesterol serum yang dapat menyebabkan gangguan pada

sirkulasi aliran darah dan menyebabkan jejas endotel dengan meningkatkan perlekatan trombosit, monosit dan sintesis faktor pertumbuhan yang menyebabkan migrasi dan proliferasi sel otot polos. Kemudian sel otot polos mengeluarkan banyak matriks ekstrasel termasuk kolagen dan proteoglikan sehingga bisa menyumbat pembuluh darah dan menyebabkan kongesti pembuluh darah (Kumar, *et al.*, 2007).

Dalam suatu penelitian yang dilakukan oleh Heriansyah (2013) untuk melihat pengaruh berbagai durasi pemberian diet tinggi lemak terhadap profil lipid tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan menunjukkan bahwa durasi pemberian diet tinggi lemak berpengaruh terhadap peningkatan kadar Trigliserida (TG) dan LDL serta menurunkan kadar HDL tikus wistar jantan. Pada durasi pemberian pakan 8, 16, dan 22 minggu menunjukkan bahwa durasi 8 minggu pemberian diet tinggi lemak secara signifikan meningkatkan kadar TG, LDL, dan menurunkan kadar HDL tikus putih strain wistar jantan. Selain itu semakin lama durasi pemberian diet tinggi lemak, maka kadar TG dan LDL-nya semakin meningkat. Pakan yang diberikan sebanyak 25 gram/hari/tikus. Komposisi diet tinggi lemak yang digunakan untuk membuat sediaan sebanyak 2,5 kg pakan dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1: Komposisi Diet Tinggi Lemak (Handayani, 2012)

Bahan	Jumlah
Tepung jagung	550 gram
Gula pasir	457,5 gram
Korsvet	275 gram
Margarin	275 gram
<i>Soybean oil</i>	130 gram
Gelatin	130 gram
Kasein	335 gram
CMC	132,5 gram
Vitamin dan mineral	25 butir
Air	375 gram
Asam kolat	5 gram
Total	2500 gram

2.5 Obesitas

2.5.1 Definisi Obesitas

Obesitas didefinisikan sebagai kondisi ketidakseimbangan antara konsumsi energi dan pengeluaran energi atau akumulasi lemak yang berlebihan pada jaringan adiposa dan organ-organ lain sampai kadar tertentu sehingga dapat merusak kesehatan. Prevalensi kelebihan berat badan (*overweight*) dan obesitas biasanya diukur berdasarkan Indeks Massa Tubuh (IMT). Indeks massa tubuh lebih dari 25 kg/m² didefinisikan sebagai keadaan *overweight* dan IMT > 30kg/m² didefinisikan sebagai keadaan obesitas (WHO, 2016). Pada obesitas peningkatan berat badan yang melampaui kebutuhan fisik dan skeletal akibat penimbunan lemak tubuh yang berlebihan. Obesitas dengan penimbunan lemak yang terbatas di sekitar pinggang dan tubuh bagian atas pada laki-laki disebut *android obesity*. Sedangkan penimbunan lemak terbatas pada bagian bawah tubuh yang paling sering terlihat pada perempuan disebut *gynecoid obesity* (Dorland, 2008). Klasifikasi internasional untuk derajat obesitas didasarkan pada IMT. Ukuran ini dapat dihitung dengan membagi berat badan (dalam kilogram)

dengan tinggi badan (dalam meter) yang dikuadratkan. Klasifikasi status berat badan berdasarkan IMT dapat dilihat pada tabel 2.2.

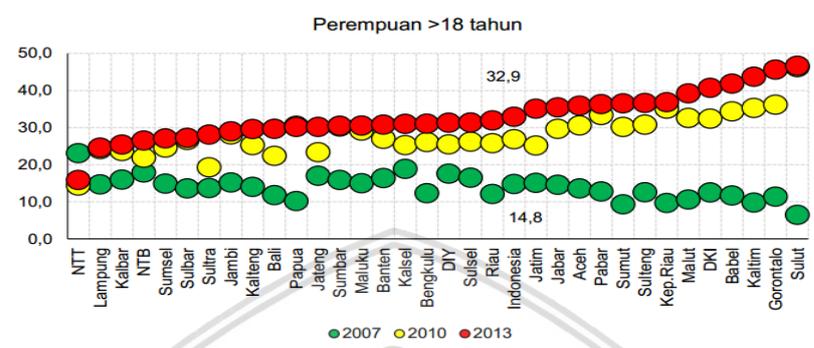
Tabel 2.2: Klasifikasi Status Berat Badan Berdasarkan IMT (Dorland, 2008)

Klasifikasi	IMT (kg/m ²)	Risiko Morbiditas
Berat badan rendah (<i>underweight</i>)	< 18,5	Rendah (tetapi risiko masalah klinis lainnya meningkat)
Normal	18,5-24,9	Risiko rata-rata
Berat badan lebih (<i>overweight</i>)	≥ 25	
Pre-obesitas	25-29,9	Risiko meningkat
Obesitas kelas I	30-34,9	Risiko sedang
Obesitas kelas II	35-39,9	Risiko berat
Obesitas kelas III	≥ 40	Risiko sangat berat

Ukuran antropometri lainnya didasarkan pada Lingkar Perut (LP) untuk mengetahui adanya obesitas sentral. Lingkar perut dihitung dengan alat ukur yang terbuat dari *fiberglass* dengan presisi 0,1 cm. Batasan untuk menyatakan status obesitas sentral berbeda antara laki-laki dan perempuan. laki-laki dengan lingkar perut di atas 90 cm dan perempuan dengan lingkar perut di atas 80 cm dinyatakan sebagai obesitas sentral (Tamer dan Sentruck, 2009).

Perempuan berada pada risiko lebih tinggi untuk terjadi obesitas dan risiko ini dapat meningkat sesuai dengan peningkatan usia. Kebanyakan wanita dengan kelebihan berat badan tidak subur, wanita dengan obesitas memiliki kemungkinan 3 kali lebih besar mengalami infertilitas dibandingkan dengan wanita yang memiliki IMT normal. Studi lain menunjukkan bahwa wanita dengan obesitas memiliki oosit lebih kecil dibandingkan dengan wanita kelompok kontrol (Sohrabi, 2015). Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) (2013) menyajikan data prevalensi obesitas pada perempuan dewasa (>18 tahun) di seluruh Indonesia

dengan jumlah 32,9%, angka tersebut memberikan peningkatan hingga 18,1% dari jumlah prevalensi tahun 2007 (13,9%) dan 17,5% dari tahun 2010 (15,5%).



Gambar 2.2 Kecenderungan Prevalensi Obesitas (IMT>25) pada Perempuan Umur > 18 Tahun (Riskesdas, 2013)

Obesitas meningkatkan risiko berbagai kelainan yang berasosiasi dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi, meliputi diabetes, hipertensi, penyakit jantung koroner, dislipidemia, komplikasi pada kehamilan, masalah menstruasi, dan kelainan lainnya (Supriyono, 2008).

Kelebihan berat badan (obesitas) dan pola makan menjadi peran penting terhadap kejadian hiperkolesterolemia. *Low Density Lipoprotein* (LDL) dapat diturunkan dengan pemilihan makanan yang mengandung lemak nabati (tidak jenuh), sebaliknya lemak hewani (lemak jenuh) dapat meningkatkan sintesis kolesterol di hati sehingga menurunkan densitas reseptor LDL dan meningkatkan konsentrasi LDL dalam serum yang akan menyebabkan akumulasi kolesterol pada makrofag, kulit dan dinding pembuluh darah yang selanjutnya dapat menghambat sirkulasi dan dapat menyebabkan kongesti pembuluh darah (Silbernagl dan Lang, 2006).

2.5.2 Penyebab Obesitas

Penyebab obesitas belum diketahui secara pasti. Obesitas adalah suatu penyakit multifaktoral yang diduga bahwa sebagian besar obesitas disebabkan oleh interaksi antara faktor genetik dan faktor lingkungan. Kontribusi faktor genetik dan lingkungan terhadap obesitas telah dievaluasi pada berbagai penelitian. Walaupun hasil penelitian bervariasi, 30%-40% varian IMT disebabkan oleh faktor genetik dan 60%-70% disebabkan oleh faktor lingkungan. Pada populasi tertentu, beberapa orang mempunyai predisposisi genetik untuk berkembang menjadi obesitas namun genotip dapat diekspresikan dalam kondisi lingkungan tertentu seperti konsumsi diet tinggi lemak (Stemmer, 2012).

Obesitas bisa disebabkan oleh faktor genetik, faktor gaya hidup dan faktor pola makan (Ogbuji, 2010).

a. Faktor genetik

Secara umum genetika memainkan peran dalam faktor penyebab obesitas. Gen dapat menyebabkan obesitas pada gangguan seperti sindrom *Bardet-Biedl* dan sindrom *Prader-Willi*. Seseorang dengan riwayat keluarga obesitas memiliki peluang dua sampai tiga kali lebih tinggi untuk terkena obesitas (Nirmala, *et al.*, 2008).

b. Faktor gaya hidup

Meskipun aktivitas fisik sangat bermanfaat, adanya peningkatan teknologi modern telah meningkatkan gaya hidup menetap pada individu. Contoh penggunaan mobil, komputer, mesin pencuci piring, dan yang lainnya telah membuat sebagian besar individu merubah aktivitas fisiknya. Mobil yang digunakan untuk menjalankan tugas jarak pendek, bukan berjalan atau naik

sepeda. Akibatnya, perubahan gaya hidup terbaru telah mengurangi jumlah keseluruhan energi yang dikeluarkan setiap harinya (Ogbuji, 2010).

c. Faktor pola makan

Pola makan, obesitas dapat terjadi ketika asupan energi tidak seimbang, dimana asupan energi yang dikonsumsi melebihi kebutuhan. Asupan makan tinggi kalori dan rendah mikronutrien, makanan-makanan cepat saji, *soft drink* atau minuman tinggi glukosa dianggap dapat meningkatkan risiko terjadinya obesitas. Tubuh kita memerlukan kalori untuk aktivitas sehari-hari seperti bernapas, mencerna makanan, dan aktivitas lainnya. Namun, penambahan berat badan terjadi ketika mengonsumsi kalori yang berlebihan (Ogbuji, 2010).

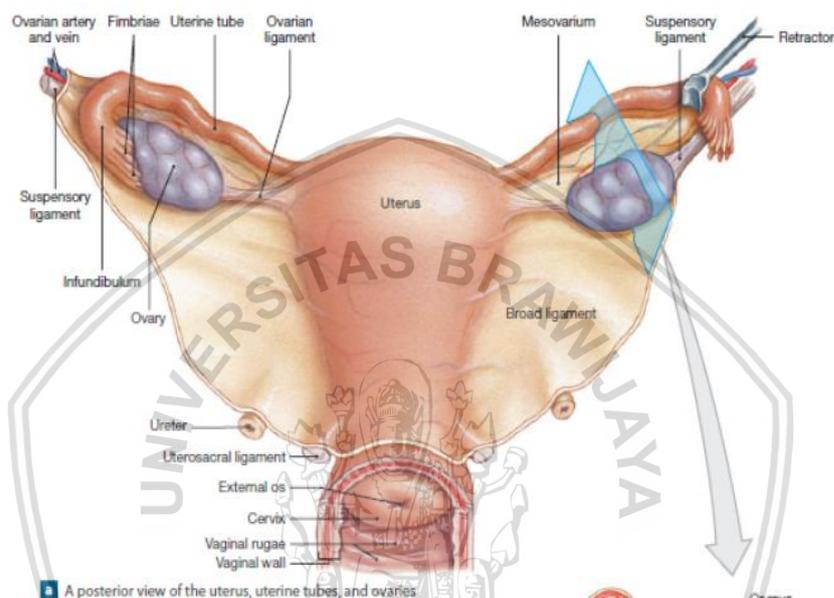
2.6 Ovarium

2.6.1 Anatomi Ovarium

Ovarium merupakan dua struktur kecil berbentuk oval, masing-masing berukuran sekitar 2 x 4 x 15 cm, berada jauh di dalam pelvis wanita sedikit lateral di belakang uterus. Ovarium melekat pada lapisan belakang ligamentum latum dengan mesovarium. Selain mesovarium, ovarium juga mempunyai dua perlekatan lain, ligamentum infundibulopelvikum (ligamentum suspensorium ovarii) yang merupakan tempat melintasnya pembuluh darah, pembuluh limfe, dan persarafan ovarium dari dinding pelvis, dan ligamentum ovarii, yang menghubungkan ovarium dan uterus. Ovarium berfungsi memproduksi sel telur yang matang untuk fertilisasi dan membuat hormon steroid dalam jumlah yang besar (Heffner dan Schust, 2005).

Ovarium menerima aliran darah dari arteri ovarii yang merupakan percabangan dari aorta. Pada aliran darah balik, vena ovarii kanan menuju ke vena cava inferior, sedangkan vena ovarii kiri menuju ke vena renal. Pembuluh

limfe ovarium melewati *aortic nodes* di level yang sama dengan pembuluh ginjal, mengikuti peraturan umum bahwa aliran pembuluh limfe suatu organ sama seperti aliran pembuluh vena organ tersebut. Ovarium menerima persarafan dari *aortic plexus* (Ellis, 2006).



Gambar 2.3 Anatomi Ovarium (Martini, et al., 2012)

2.6.2 Histologi Ovarium

Setiap ovarium mempunyai bagian-bagian histologi sebagai berikut (Junqueira dan Carneiro, 2007):

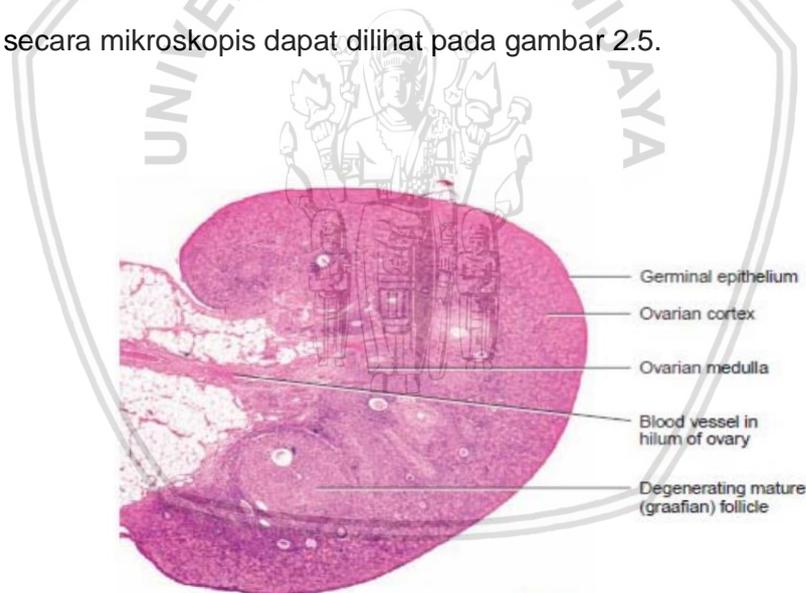
1. *Germinal epithelium* atau epitel germinativum adalah epitel selapis pipih atau selapis kuboid yang menutupi permukaan ovarium.
2. *Tunica albuginea* atau tunika albuginea adalah selapis jaringan ikat padat yang menyebabkan warna ovarium menjadi keputihan dan terletak di bawah epitel germinativum.
3. *Ovarian cortex* atau korteks terletak dibawah tunika albuginea, merupakan daerah yang terutama ditempati folikel ovarium dan oositnya. Folikel ini

terbenam dalam jaringan ikat (stroma) di daerah korteks. Stroma ini terdiri atas fibroblas berbentuk kumparan khas yang berespon dengan berbagai cara terhadap rangsangan hormon dan fibroblas organ lain.

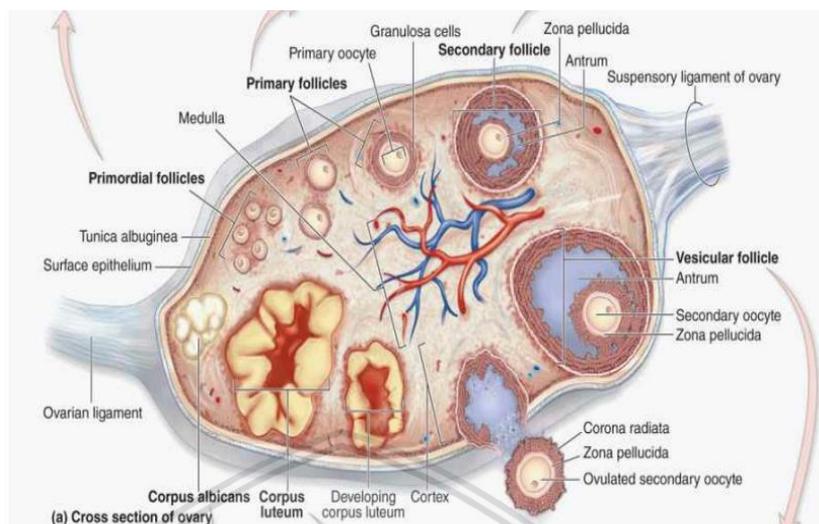
4. *Ovarian medulla* atau daerah medula yang terletak di bawah korteks, merupakan bagian terdalam ovarium. Tidak ada batas tegas antara daerah korteks dan medula, tetapi di daerah medula tersusun dari jaringan ikat longgar dan berisi pembuluh darah, pembuluh limfe, dan saraf.
5. *Ovarian follicles* atau folikel ovarium terdapat di daerah korteks dan terdiri atas oosit yang dikelilingi oleh satu atau lebih sel folikel, atau sel granulosa. Ketika sel folikel membentuk selapis sel kuboid, folikel ini disebut folikel primer unilaminar. Sel folikel terus berproliferasi dan membentuk epitel folikel berlapis, atau lapisan granulosa dengan sel-sel yang saling berkomunikasi. Folikel ini disebut sebagai folikel primer multilaminar atau preantrum. Sewaktu folikel tumbuh, terutama karena sel granulosa bertambah besar dan bertambah banyak, folikel ini berpindah ke daerah korteks yang lebih dalam. Cairan (*liquor folliculi*) mulai menggumpal di antara sel-sel folikel. Celah-celah kecil yang mengandung cairan ini menyatu, dan sel-sel granulosa mengatur diri membentuk rongga yang lebih besar, yaitu antrum. Folikel ini disebut sebagai folikel sekunder atau folikel antrum.
6. *Mature (graafian) follicle* atau folikel matang, pra-ovulasi, atau folikel de Graaf, sangat besar (berdiameter sekitar 2,5 cm) sehingga dapat menonjol dari permukaan ovarium dan dapat dideteksi dengan ultrasonografi. Folikel ini merupakan folikel dominan yang dapat mengalami ovulasi dan biasanya hanya satu untuk setiap siklus menstruasi. Sedangkan folikel lainnya mengalami atresia.

7. *Corpus luteum* atau korpus luteum merupakan folikel matang setelah ovulasi. Korpus luteum menghasilkan progesteron, estrogen, relaxin, dan inhibin akibat rangsangan LH. Korpus luteum sangat tergantung pada terjadinya kehamilan. Setelah dirangsang LH, korpus luteum terprogram untuk bersekresi selama 10-12 hari. Jika tidak ada rangsangan hormon lain dan tidak ada proses kehamilan, sel-sel korpus luteum akan berdegradasi melalui apoptosis. Fibroblas di dekatnya memasuki daerah ini dan membentuk jaringan parut ikat padat yang disebut sebagai korpus albicans atau badan putih karena banyak terdapat kolagen.

Gambaran histologi ovarium dapat dilihat pada gambar 2.4 dan gambaran ovarium secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.4 Histologis Ovarium (Guyton dan Hall, 2007)



Gambar 2.5 Gambaran Mikroskopis Ovarium (Guyton dan Hall, 2007)

2.6.3 Pembuluh Darah Medula Ovarium

Dinding pembuluh darah medula ovarium tersusun atas sel endotel, sel otot polos dan matriks ekstrasel. Terdiri dari tiga lapisan konsentrik yaitu tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia (Kumar, *et al.*, 2007).

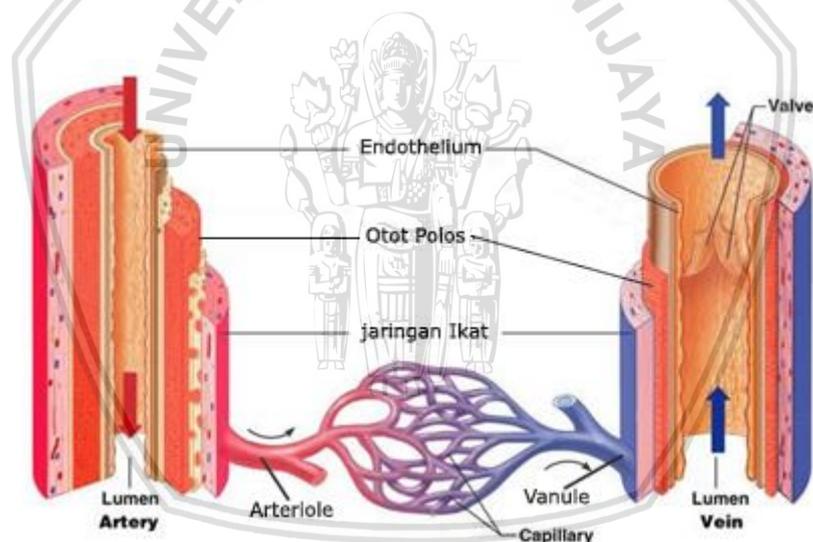
Sel endotel merupakan pelapis bagian dalam pembuluh darah (Kumar, *et al.*, 2007). Fungsi sel endotel yaitu sebagai barier jaringan subendotel terhadap *growth factor* dan platelet sehingga agregasi trombosit dapat dihambat dan permukaan luminal pembuluh darah tetap licin. Endotel juga menstimulasi ligand atau agonis pada reseptor tertentu di permukaan luminal endotel dengan mengeluarkan berbagai bahan yang akan mempengaruhi komponen darah terutama trombosit dan pengeluarannya ke subendotel dan otot polos akan mempengaruhi pengaturan tonus pembuluh darah. Pada keadaan tertentu dapat terjadi disfungsi endotel sehingga terjadi vasokonstriksi pembuluh darah kemudian menyebabkan kongesti pembuluh darah (Sargowo, 2003).

Tunika intima terdiri dari satu lapis sel endotel dengan jaringan ikat subendotel dibawahnya dan dipisahkan dari media oleh membran elastik padat

(*lamina elastic interna*). Endotel pada intima melapisi permukaan dalam lumen pembuluh darah sebagai barrier agar sel darah atau lemak dalam darah tidak masuk ke dalam dinding pembuluh darah (Kumar, *et al.*, 2007).

Tunika media yang tersusun oleh sel otot polos di dekat lumen menerima oksigen dan nutrisi melalui difusi langsung dari lumen pembuluh darah melalui lubang (*fenestras*) di membran elastika interna. Otot polos berfungsi mengadakan relaksasi dan kontraksi, meningkatkan resistensi terhadap aliran darah dan meningkatkan tekanan darah (Kumar, *et al.*, 2007).

Tunika adventisia merupakan lapisan yang tersusun atas jaringan ikat sebagai penunjang dengan serat saraf dan vasa vasorum (Kumar, *et al.*, 2007).



Gambar 2.6 Histologi Pembuluh Darah (Guyton dan Hall, 2007)

2.7 Kongesti Pembuluh Darah Medula Ovarium

Kongesti adalah keadaan dimana pembuluh darah melebar yang disebabkan oleh terjadinya obstruksi pada aliran darah tertentu atau vasokonstriksi pembuluh darah sehingga aliran darah tersumbat dan otot polos merespon dengan mengadakan vasodilatasi. Pada daerah yang mengalami kongesti akan terlihat lebih memerah karena ada obstruksi atau peradangan

yang mencegah darah mengalir normal seperti kemacetan kapiler (Sargowo, 2003).

Kongesti pembuluh darah medula ovarium dimulai dari disfungsi endotel yang terjadi akibat terlepasnya sel endotel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas endotel, peningkatan perlekatan leukosit, dan perubahan ekspresi produk gen sel endotel. Peningkatan konsentrasi LDL dapat secara langsung mempengaruhi perubahan fungsi endotel melalui pembentukan radikal bebas oksigen yang mengurangi produksi *Nitric Oxide* (NO) yang merupakan vasodilator dari pembuluh darah. *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang teroksidasi menstimulasi peningkatan pembentukan radikal bebas oksigen yang dikeluarkan oleh makrofag dengan membentuk sel busa sehingga meningkatkan akumulasi monosit dan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin proinflamasi yang bersifat sitotoksik bagi sel endotel dan sel otot polos, selanjutnya menyebabkan disfungsi sel endotel (Kumar, *et al.*, 2007).

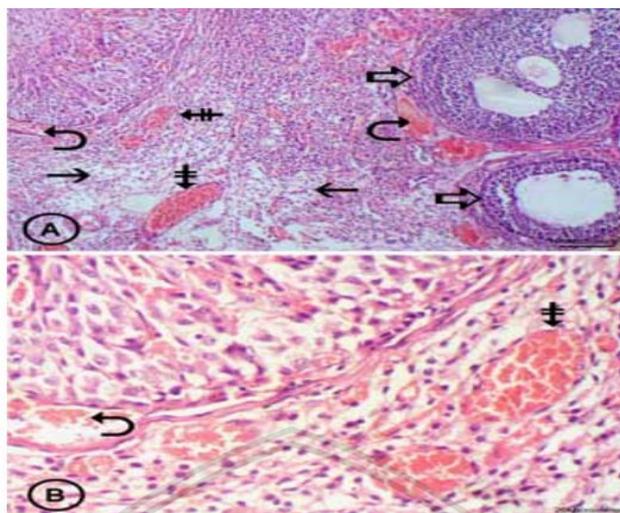
Struktur vaskuler ditentukan oleh sel otot polos sedangkan sel darah putih dapat merusak intima. Prostasiklin dan NO menghambat adhesi platelet pada dinding vaskuler, apabila terdapat disfungsi endotel dan platelet menempel maka endotel akan melepaskan tromboxan A₂ dan serotonin yang menyebabkan konstriksi dan terjadinya proliferasi dan migrasi sel otot vaskuler akibat pelepasan platelet dari faktor pertumbuhan (Kumar, *et al.*, 2007). Setelah terjadi kerusakan endotel vaskuler, monosit dan lipid (LDL) menumpuk pada pembuluh darah dan monosit masuk ke tunika intima dan berdiferensiasi menjadi makrofag yang akan mencerna dan mengoksidasi tumpukan lipoprotein sehingga bentuk makrofag menyerupai busa dan selanjutnya akan bersatu dengan pembuluh darah membentuk plak. Selain itu, makrofag juga akan mengeluarkan sitokin

proinflamasi dan terjadi proliferasi jaringan fibroblas dan otot polos pada permukaan dalam dinding pembuluh darah vena maupun arteri. Penimbunan lipid dan proliferasi sel bertambah besar dan akhirnya plak menonjol ke dalam lumen yang dapat mengurangi aliran darah pada aliran selanjutnya, sedangkan aliran sebelumnya akan terbedung sehingga menyebabkan warna kemerahan pada daerah tersebut dan pembuluh darah akan melebar atau kongesti (Guyton dan Hall, 2007). Pembuluh darah medula ovarium yang normal secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar 2.7 dan pembuluh darah medula ovarium yang mengalami kongesti dapat dilihat pada gambar 2.8.



Gambar 2.7 Gambaran Pembuluh Darah Normal pada Medula Ovarium (Nasr, *et al.*, 2014)

Pada gambar ini diperlihatkan morfologi ovarium tikus dengan gambaran folikel sekunder normal (panah tebal) dan pembuluh darah medula ovarium yang normal dan tidak mengalami kongesti pembuluh darah (panah tipis). Gambar A diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali, dan gambar B diamati dengan cara yang sama dengan perbesaran 2 kali lipat.



Gambar 2.8 Kongesti Pembuluh Darah Medula Ovarium (Nasr, et al., 2014)

Pada gambar ini diperlihatkan morfologi ovarium tikus yang memperlihatkan perbedaan fase pertumbuhan folikel (panah tebal) dan pembuluh darah medula ovarium yang mengalami kongesti dan berwarna lebih kemerahan (panah tipis). Gambar A diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali, dan gambar B diamati dengan cara yang sama dengan perbesaran 2 kali lipat.

Monosodium glutamat dapat merusak *nucleus arkuata* di hipotalamus dan dapat menyebabkan penurunan densitas, volume, ukuran serta sekresi kortikotropin, tiotropin, FSH dan LH gonadotropin. Gangguan hormonal dapat menyebabkan gangguan dalam proses perkembangan dan pembentukan sel benih (ovum) melalui proses oogenesis. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) berfungsi untuk merangsang perkembangan folikel di dalam ovarium sampai terjadi ovulasi dan LH berperan dalam perkembangan korpus luteum, mempertahankan dan merangsang korpus luteum untuk menghasilkan hormon progesteron. Keterbatasan LH dan FSH dalam menstimulasi organ target yakni ovarium dalam melakukan regulasi hormonal secara langsung dapat berakibat pada penurunan kadar estrogen dan progesteron (Al-Asmakh, 2007).

Estrogen merupakan hormon steroid yang mengatur faktor pertumbuhan diferensiasi dan fungsi dalam berbagai jaringan target dalam tubuh. Estrogen dalam aliran darah, sebagian besar diikat oleh protein plasma dengan afinitas

dan spesifitas tinggi, misalnya pengikatan hormon seks oleh *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG), kemudian akan berdifusi ke dalam sel atau nukelus untuk berikatan dengan protein reseptor spesifik. Kadar antara estrogen bebas dan terikat adalah seimbang (*ekuilibrium*) dan tetap. Estrogen bebas yang akan aktif secara fisiologis dan akan digunakan oleh jaringan dalam metabolisme, sedangkan estrogen terikat secara fisiologis akan inaktif dan akan diproteksi dari enzim metabolik dalam suatu organ (Kim dan Park, 2012).

Terdapat dua bentuk utama reseptor estrogen yaitu *Estrogen Receptor α* (ER- α) dan *Estrogen Receptor β* (ER- β) yang memiliki afinitas pada estradiol dan distribusi anatomis yang berbeda (Greenstein dan Wood, 2007). *Estrogen Receptor α* banyak ditemukan pada endometrium, hati, jantung, ginjal dan sedikit terdeteksi pada ovarium, kelenjar mammae, sel leydig pada testis, tulang dan hipotalamus. Sedangkan ER- β banyak ditemukan pada sel granulosa, ovarium, saluran pencernaan, sistem kardiovaskuler, kandung kemih, prostat, paru-paru, dan sistem saraf pusat (Kim dan Park, 2012).

Reseptor estrogen telah diidentifikasi pada endotel dan sel otot polos vaskuler, ketika estrogen berikatan dengan reseptornya maka akan dapat mempengaruhi tonus vaskuler. Estrogen mengandung antioksidan khas yang dapat mempengaruhi profil lipid, berperan dalam peningkatan vasodilatasi *endothelium-dependent*, menstimulasi vasodilator prostaglandin (Sargowo, 2003).

Pengaruh estrogen terhadap profil lipid plasma ditunjukkan dengan kemampuannya yaitu meningkatkan kadar HDL dan sedikit menurunkan kadar LDL dan kadar kolesterol plasma, peningkatan kadar trigliserida dengan cara

menurunkan oksidasi hepatis dari jaringan lemak menjadi keton (Sibernagi dan Lang, 2006).

Bahan pembentukan hormon steroid adalah kolesterol dalam sirkulasi yang disintesis dari asetat dibawa oleh LDL. Pengangkutan LDL dari darah oleh sel-sel steroidogenik dengan reseptor permukaan sel yang mengenali apoprotein sebagai protein permukaan spesifik pada LDL (Sibernagi dan Lang, 2006). Estrogen berperan sebagai *free radical scavenger* dan dapat menginduksi antioksidan enzimatik endogen (Karelis, *et al.*, 2005). Menurunnya sekresi estrogen menyebabkan terjadinya stress oksidatif dalam tubuh (Nazrun, *et al.*, 2008). Stress oksidatif terjadi karena peningkatan radikal bebas dan terjadi penurunan antioksidan. Radikal bebas yang tinggi menyebabkan peroksidasi lipid membran sel dan merusak organisasi membran sel. Peroksidasi lipid akan menghasilkan LDL, sehingga tidak dikenali oleh reseptor apoprotein, namun dikenali oleh *reseptor scavenger* atau oleh oksidasi LDL reseptor yang bersifat sitotoksik. *Low density lipoprotein* yang teroksidasi akan merangsang produksi sel inflamasi, stres metabolik pada endotel juga akan menghasilkan produksi superoksida yang berlebihan pada sel endotel dan sel otot polos (Bertolin, *et al.*, 2011).

Lipid utama pembentuk obstruksi adalah kolesterol dan ester kolesterol yang berasal dari plasma. Terbentuknya obstruksi di percabangan pembuluh darah, titik percabangan, dan disepanjang dinding posterior pembuluh darah menjadi tempat terjadinya gangguan pola aliran darah (Kumar, *et al.*, 2007). Penurunan reseptor LDL menyebabkan gangguan penyerapan LDL oleh hati sehingga terjadi peningkatan jumlah LDL dalam darah (Katzung, 2002). Meningkatnya kadar LDL dalam darah menyebabkan berkurangnya *endothelin-*

dependent relaxation atau *nitrit oxide* yang merelaksasikan sel-sel otot dalam vasodilatasi (Sargowo, 2003).

2.8 Hewan Coba

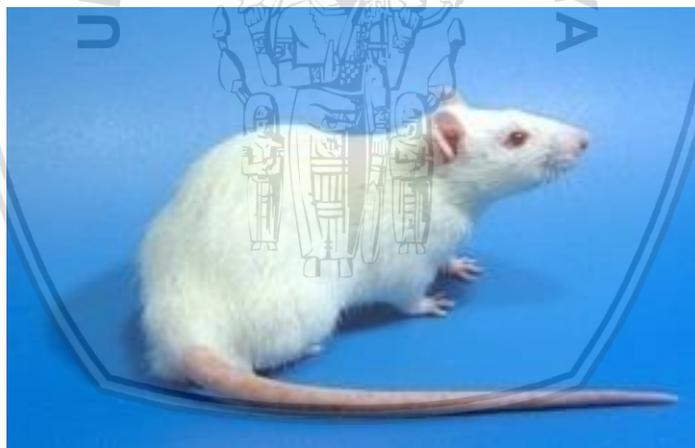
2.8.1 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Penelitian dengan menggunakan tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) lebih banyak dilakukan oleh peneliti karena banyak yang menganggap aspek perilaku dan fisiologis tikus lebih relevan dengan manusia dan lebih mudah diamati, mudah dipelihara dibandingkan dengan mencit. Terdapat beberapa galur tikus yang dapat digunakan untuk percobaan yaitu wistar *Swiss albino*, *Long evans*, dan *Sprague dawley*, namun yang sering digunakan dalam penelitian adalah tikus wistar albino (Widiartini, *et al.*, 2013).

Terdapat beberapa alasan tikus digunakan sebagai hewan coba karena memiliki sifat-sifat yaitu memiliki daya adaptasi yang baik, fungsi dan bentuk organnya serta proses biokimia dan biofisik antara tikus dan manusia memiliki banyak kemiripan. Tikus dipilih sebagai hewan coba karena penanganan dan pemeliharaannya mudah, biaya yang dibutuhkan tidak mahal, umur relatif pendek, sifat reproduksi menyerupai mamalia besar, lama kebuntingan singkat, angka kelahiran tinggi, siklus estrus pendek dan karakteristik tiap fase siklus jelas. Hewan ini sebagian besar digunakan untuk penelitian yang bertujuan ilmiah seperti pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, dan embriologi (Widiartini, *et al.*, 2013).

Taksonomi tikus putih menurut Hedrich (2006), sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i>



Gambar 2.9 Tikus *Rattus novergicus* (Hedrich, 2006)

2.8.2 Sistem Reproduksi

Masa hidup tikus putih ini adalah kurang lebih 4 tahun. Tikus mengalami kedewasaan pada umur 60-90 hari. Lama kebuntingannya sekitar 20-22 hari, sedangkan masa laktasinya adalah 21 hari. Dalam aktivitas reproduksinya, tikus mempunyai sifat poliestrus yaitu hewan yang memiliki siklus berahi lebih dari dua

kali dalam setahun. Siklus berahi dipengaruhi dan diatur oleh hormon-hormon reproduksi dan berlangsung selama 4-6 hari (McNamara, 2006).

Siklus berahi pertama timbul setelah 1-2 hari dari mulainya pembukaan vagina yang terjadi pada umur 28-29 hari, untuk menentukan tahapan deteksi siklus berahi dapat dilakukan dengan teknik *papsmear* (ulas vagina), dengan melihat gambaran epitel vaginanya menggunakan mikroskop sehingga dapat dibedakan menjadi proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Fase estrus dipengaruhi mekanisme hormonal yaitu hubungan antara hormon-hormon hipotalamus-hipofisis (LH dan FSH), hormon-hormon ovarium (estradiol dan progesteron) dan hormon uterus (prostaglandin) (Akbar, 2010).

Siklus reproduksi tikus putih terdiri dari beberapa fase yaitu (Akbar, 2010):

a. Fase proestrus

Proestrus adalah fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel matang dibawah pengaruh FSH. Fase ini berlangsung 12 jam. Setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama 2-3 hari sebelum estrus, sistem reproduksi memulai persiapan-persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium. Akibatnya sekresi estrogen dalam darah semakin meningkat sehingga akan menimbulkan perubahan-perubahan fisiologis dan saraf, disertai kelakuan berahi pada hewan-hewan betina. Perubahan fisiologis tersebut meliputi pertumbuhan folikel, meningkatnya pertumbuhan endometrium, uteri dan serviks serta peningkatan vaskularisasi dan keratinisasi epitel vagina pada beberapa spesies. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel bertanduk, dan terdapat lendir yang banyak.

b. Fase estrus

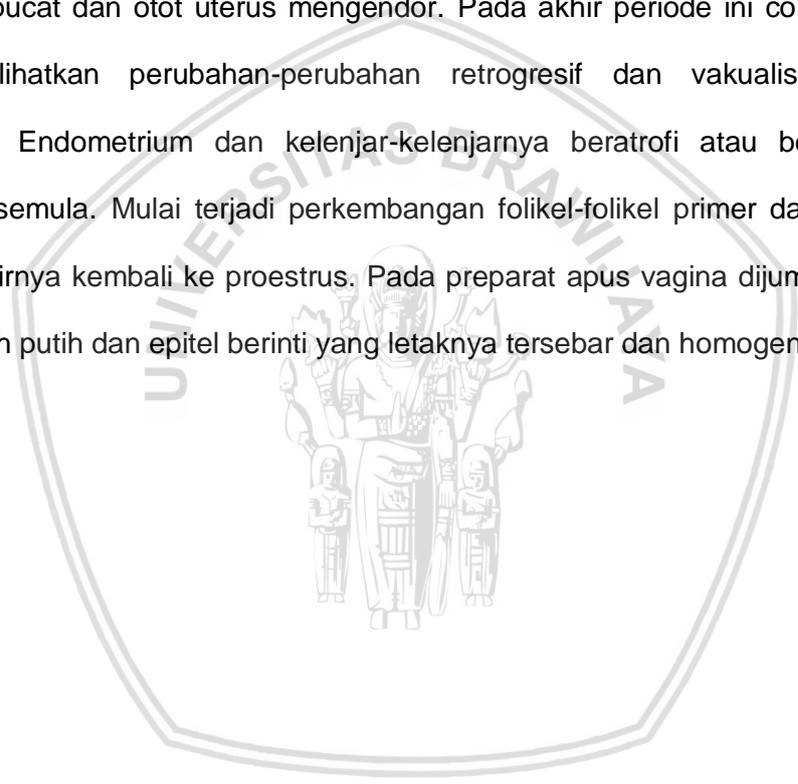
Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam. Folikel de Graaf membesar dan menjadi matang, serta ovum mengalami perubahan-perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. Pada preparat apus vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar.

c. Fase metestrus

Metestrus adalah periode segera sesudah estrus di mana corpus luteum tumbuh cepat dari sel granulosa folikel yang telah pecah di bawah pengaruh LH dan *adenohypophysis*. Metestrus sebagian besar berada di bawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh corpus luteum. Progesteron menghambat sekresi FSH oleh *adenohypophysis* sehingga menghambat pembentukan folikel de Graaf yang lain dan mencegah terjadinya estrus. Selama metestrus uterus mengadakan persiapan-persiapan seperlunya untuk menerima dan memberi makan pada embrio. Menjelang pertengahan sampai akhir metestrus, uterus menjadi agak lunak karena pengendoran otot uterus. Fase ini berlangsung selama 21 jam. Pada preparat apus vagina ciri yang tampak yaitu epitel berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel menanduk semakin lama semakin sedikit.

d. Fase diestrus

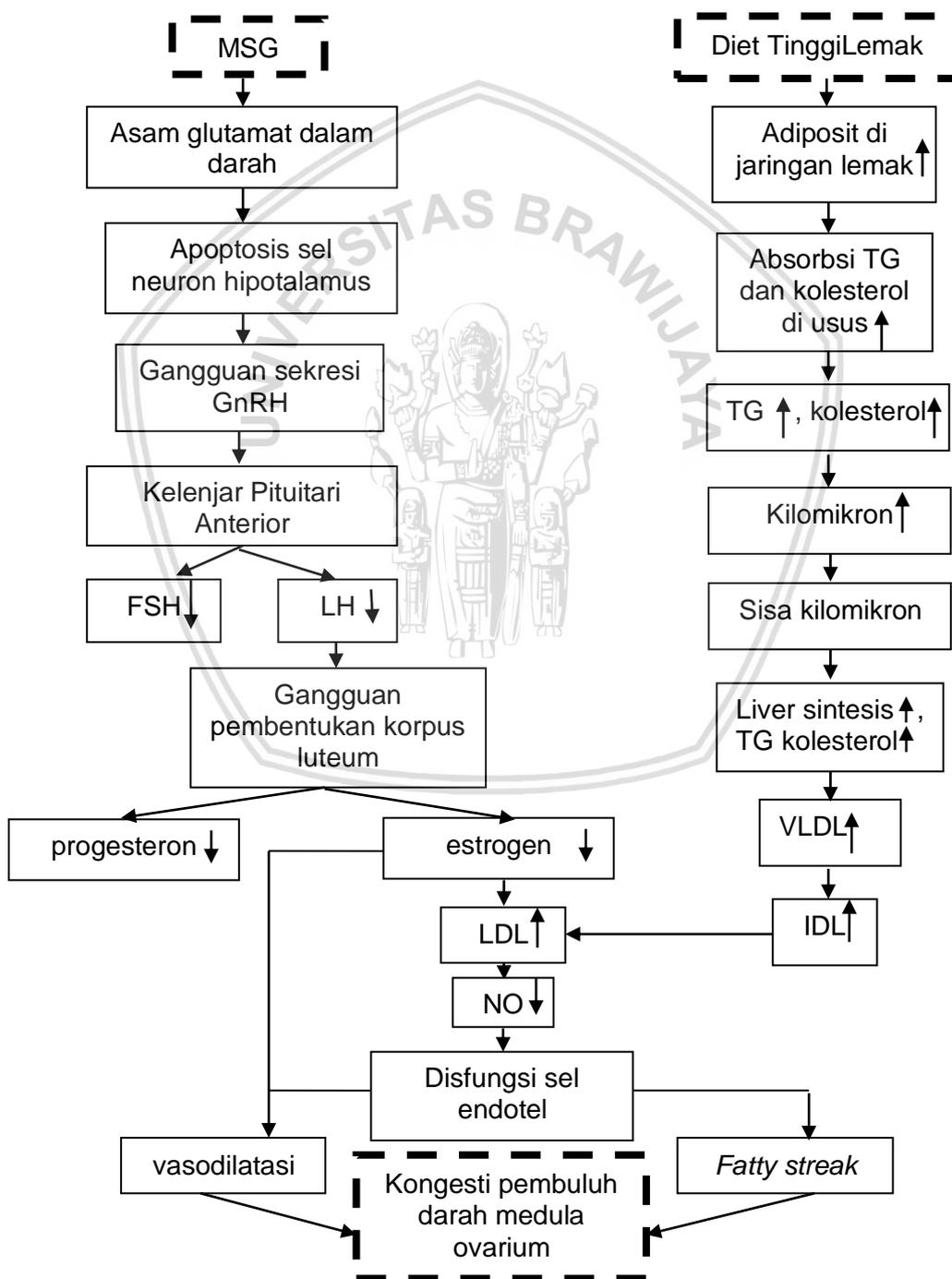
Diestrus adalah periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak-ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Korpus luteum menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Endometrium lebih menebal dan kelenjar-kelenjar mengalami hipertrofi. Serviks menutup dan lendir vagina mulai kabur dan lengket. Selaput mukosa vagina pucat dan otot uterus mengendor. Pada akhir periode ini corpus luteum memperlihatkan perubahan-perubahan retrogresif dan vakualisasi secara gradual. Endometrium dan kelenjar-kelenjarnya beratrofi atau beregresi ke ukuran semula. Mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke proestrus. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen.



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

= yang diamati



= yang tidak diamati

Glutamat dapat disintesis secara endogen maupun dari prekursornya yaitu glutamin. Secara endogen glutamat disintesis oleh retikulum endoplasma kemudian ditranspor menuju aparatus golgi untuk diproses lebih lanjut. Kemudian glutamat akan muncul pada permukaan aparatus golgi dalam bentuk terbungkus membran vesikular. Dalam vesikel ini glutamat akan dibawa menuju axon melalui sistem mikrotubul yang disertai energi dari mitokondria. Setelah mencapai ujung axon, vesikel yang berisi glutamat akan merapat pada membran *presynaps* dan mengalami eksositosis. Proses ini membuat glutamat akan dikeluarkan menuju celah sinaps. Setelah mencapai celah sinaps maka glutamat akan berinteraksi dengan reseptor glutamat di membran *postsynaps* yaitu reseptor ionotropik yang langsung terhubung dengan kanal ion dan reseptor metabotropik. Reseptor ionotropik terdiri dari NMDA (N-methyl-D-Aspartate), AMPA (Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate) dan reseptor kainite. Reseptor-reseptor ini tersebar di susunan saraf pusat pada bagian amigdala, hipokampus, dan hipotalamus yang berfungsi sebagai regulator fungsi vital metabolik dan autonomik.

Glutamat dari Monosodium Glutamat (MSG) dalam konsentrasi tinggi dapat bersifat neurotoksik. Aktivasi reseptor NMDA akan meningkatkan konsentrasi kalsium di dalam sel dan mengaktifkan berbagai enzim yang berkontribusi terhadap kematian sel, menyebabkan apoptosis sel neuron pada hipotalamus, merusak *nucleus arkuata* di hipotalamus dan dapat menyebabkan

penurunan densitas, volume, ukuran serta sekresi FSH dan LH gonadotropin. *Follicle stimulating hormone* berfungsi untuk merangsang perkembangan folikel di dalam ovarium sampai terjadi ovulasi dan LH berperan dalam perkembangan korpus luteum, mempertahankan dan merangsang korpus luteum untuk menghasilkan hormon progesteron dan estrogen. Keterbatasan LH dan FSH dalam menstimulasi organ target yakni ovarium dalam melakukan regulasi hormonal secara langsung dapat berakibat pada penurunan kadar estrogen dan progesteron.

Menurunnya kadar estrogen menyebabkan penurunan reseptor LDL sehingga terjadi gangguan penyerapan LDL oleh hati dan LDL dalam darah meningkat. Bukan hanya MSG, diet tinggi lemak akan meningkatkan absorpsi lemak, dan menyebabkan asam lemak jenuh meningkat. Peningkatan asam lemak akan meningkatkan kadar kolesterol total. Kadar kolesterol total yang tinggi akan mengubah metabolisme *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang sangat mudah teroksidasi dengan adanya radikal bebas dalam tubuh. Meningkatnya kadar LDL dalam darah menyebabkan berkurangnya *endothelin-dependent relaxation* atau NO yang merelaksasikan sel-sel otot dalam vasokonstriksi dan juga memengaruhi peningkatan ekspresi monosit ke sub endotel kemudian monosit berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag akan memfagosit LDL yang teroksidasi tersebut sehingga terbentuk sel busa yang dapat meningkatkan akumulasi monosit dan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin proinflamasi yang bersifat sitotoksik bagi sel endotel dan sel otot polos, selanjutnya menyebabkan disfungsi sel endotel. Struktur vaskuler ditentukan oleh sel otot polos sedangkan sel darah putih dapat merusak intima. Prostasiklin dan NO menghambat adhesi platelet pada dinding vaskuler, apabila

terdapat disfungsi endotel dan platelet menempel maka endotel akan melepaskan tromboxan A₂ dan serotonin yang menyebabkan konstriksi dan terjadinya proliferasi dan migrasi sel otot vaskuler akibat pelepasan platelet dari faktor pertumbuhan. Setelah terjadi kerusakan endotel vaskula, monosit dan LDL menumpuk pada pembuluh darah dan monosit masuk ke tunika intima dan berdiferensiasi menjadi makrofag yang akan mencerna dan mengoksidasi tumpukan lipoprotein sehingga bentuk makrofag menyerupai busa dan selanjutnya akan bersatu dengan pembuluh darah membentuk *fatty streak*. Selain itu, makrofag juga akan mengeluarkan sitokon proinflamasi dan terjadi proliferasi jaringan fibroblas dan otot polos pada permukaan dalam dinding arteri. Penimbunan lipid dan proliferasi sel bertambah besar dan akhirnya plak menonjol ke dalam lumen arteri dapat membatasi aliran darah sehingga terjadi pelebaran pembuluh darah (kongesti) pada aliran sebelumnya dan menyebabkan warna kemerahan pada daerah tersebut.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan Monosodium Glutamat (MSG) dapat meningkatkan lebar ukuran diameter pembuluh darah arteri dan vena medula ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan metode rancangan *Randomized control group post test design*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih betina jenis *Rattus novergicus*.

4.2 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus putih betina jenis *Rattus novergicus*. Tikus yang digunakan berumur 6-8 minggu dengan berat badan 140-200 gram, memiliki bulu rata berwarna putih, sehat, mata jernih, bergerak aktif, dan tingkah laku normal.

4.2.1 Kriteria Inklusi

- 1) Jenis kelamin tikus : betina
- 2) Berat badan tikus : 140-200 gram
- 3) Umur tikus : 6-8 minggu
- 4) Siklus estrus : memiliki siklus estrus reguler yaitu selama 4-5 hari (satu siklus)
- 5) Sehat ditandai dengan pergerakan yang aktif, mata berwarna jernih, tidak ada kelainan morfologi dan bulu yang tebal berwarna putih.

4.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung
2. Tikus yang tidak mencapai fase proestrus pada hari ke-61 perlakuan.

4.2.3 Jumlah Sampel

Jumlah pengulangan (n) pada setiap perlakuan (p) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Notoadmodjo, 2010):

$$p(n-1) \geq 15$$

p = jumlah perlakuan; n = jumlah ulangan tiap perlakuan

Pada penelitian ini p = 6 sehingga jumlah pengulangan adalah

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21, n \geq 3,5 \text{ dibulatkan menjadi } n \geq 4.$$

Jumlah sampel yang diperlukan untuk setiap perlakuan adalah 4 ekor tikus. Selain itu, untuk mengantisipasi apabila ada tikus yang mati saat masa adaptasi dan perlakuan, maka setiap perlakuan diberikan penambahan 1 ekor tikus sebagai cadangan, sehingga total sampel yang dibutuhkan $5 \times 6 = 30$ ekor tikus.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah diameter pembuluh darah arteri dan vena medula ovarium tikus betina jenis *Rattus norvegicus* yang mengalami kongesti.

4.3.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian MSG dan diet tinggi lemak. Dosis MSG yang diberikan adalah 0,7; 0,05; 0,2; dan 0,35 mg/gBB tikus.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini bertempat di Laboratorium ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan selama 56 sampai 61 hari.

Lama waktu percobaan didasarkan pada penelitian Heriansyah (2013) pada tikus putih jenis *Rattus Novergicus* jantan yang diberikan diet tinggi lemak selama 56 hari secara signifikan menunjukkan peningkatan kadar TG, LDL, dan penurunan kadar HDL tikus. Jangka waktu penelitian dari 56 sampai 61 hari ditentukan berdasarkan rata-rata siklus estrus normal pada tikus yaitu 4-5 hari (Byers, 2012).

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

4.5.1.1 Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Kandang tikus yang berupa box plastik sebanyak 30 buah diisi dengan sekam dan ditutup dengan kawat kasa. Masing-masing kandang ditempati 1 ekor tikus.
- b. Tempat minum

4.5.1.2 Alat Pembuat dan Pemberian Bahan Makanan Hewan Coba

Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur, wadah minum, pengaduk, sonde lambung dan nampan.

4.5.1.3 Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba

Neraca Ohaus Sartorius.

4.5.1.4 Alat Pemeriksaan Histologi

Cover glass, kaca objek, pinset dan mikroskop.

4.5.1.5 Alat Bedah Hewan Coba

Toples, gunting bedah, sterofom, pinset, pisau bedah, dan kapas.

4.5.2 Bahan

4.5.2.1 Bahan Makanan Tikus

- a. Pakan normal yang diberikan saat aklimatisasi memiliki komposisi (untuk 1 kg pakan): tepung jagung 615 gram, gula pasir 85 gram, minyak kedelai 45 gram, gelatin 65 gram, kasein 90 gram, CMC 51 gram, vitamin dan mineral 5 butir, air 750 ml. Pakan normal yang diberikan adalah 15% dari berat badan hewan coba (Handayani, 2012).
- b. MSG *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99% yang diperoleh dari *TCI Biowalt Company*. Dosis MSG yang diberikan adalah 0,7; 0,05; 0,2; dan 0,35 mg/gBB tikus masing-masing dilarutkan dalam 1 ml aquades (Megawati, *et al.*, 2004).
- c. Diet Tinggi Lemak memiliki komposisi (untuk 2,5 kg pakan): tepung jagung 550 gram, gula pasir 457,5 gram, korsvet 275 gram, margarin 275 gram, minyak kedelai 130 gram, gelatin 130 gram, kasein 335 gram, CMC 132,5 gram, vitamin dan mineral 25 butir, air 375 gram, asam kolat 5 gram, dan kuning telur 20 gram. Diet tinggi lemak yang diberikan adalah 15% dari berat badan hewan coba (Handayani, 2012).
- d. Minuman hewan coba adalah air matang.

4.5.2.2 Bahan untuk Pembedahan Hewan Coba

Ketamin 0,2 ml.

4.5.2.3 Bahan Pengamatan Histologi

Xylol, *alcohol absolute*, alkohol 90%, alkohol 80%, air, *hematoxylin*, *HydrochloricAcid* (HCl) 0,6%, lithium karbonat 0,5%, entelan dan eosin.



4.6 Definisi Istilah/Operasional

Tabel 4.1 Definisi Istilah/Operasional Penelitian

Variabel	Definisi	Skala	Satuan
Hewan coba	Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 tikus betina jenis <i>Rattus novergicus</i> , berumur 6-8 minggu dengan berat badan 140-200 gram, memiliki bulu rata berwarna putih, sehat, mata jernih, bergerak aktif, dan tingkah laku normal. Hewan coba tersertifikasi dan terstandar, dibeli dari Institut Biosains Universitas Brawijaya Malang.		Ekor
Diet tinggi lemak	Komposisi makanan yang terdiri dari tepung jagung, gula pasir, korsvet, margarin, soybean oil, gelatin, kasein, <i>carboxy methyl cellulose</i> (CMC), air, asam kolat, dan kuning telur (Handayani, 2012). Diet normal yang diberikan 25g/hari selama 56-61hari.		g/hari
Monosodium Glutamat	Monosodium Glutamat yang digunakan adalah <i>L-glutamic acid monosodium salt hydrate</i> 99% yang didapatkan dari TCI Biowalt Company. Dosis MSG yang diberikan adalah 0,7; 0,05; 0,2; 0,35 mg/gBB	Rasio	mg/gBB tikus
Diet normal	Diet normal adalah pakan normal tikus yang terdiri dari tepung jagung 615 gram, gula pasir 85 gram, <i>soybean oil</i> 45 gram, gelatin 65 gram, kasein 90 gram, CMC 51 gram, vitamin dan mineral 5 butir, air 750 ml (Handayani, 2012). Diet normal yang diberikan 25g/hari selama 56-61 hari.		mg/gBB tikus
Kongesti pembuluh darah medula ovarium	Diameter pembuluh darah arteri dengan ukuran > 8 μm dan pembuluh darah vena dengan ukuran > 20 μm pada 1 irisan preparat medula ovarium kanan dan kiri yang dirata-rata, dilihat menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali dan 6 lapang pandang pada pemeriksaan Hematoksilin-Eosin (HE).	Nominal	Sel

4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data

4.7.1 Pembuatan Diet Normal

Komposisi pembuatan diet normal dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Komposisi untuk 1 Kg Pakan Normal (Handayani, 2012)

Komposisi	Jumlah
Tepung jagung	615 gram
Gula pasir	85 gram
Minyak kedelai	45 gram
Gelatin	65 gram
Kasein	90 gram
CMC	51 gram
Vitamin dan mineral	5 butir
Air	750 ml

Kebutuhan pakan tikus per hari = 25 gram/tikus/hari

4.7.2 Pembuatan Diet Tinggi Lemak

Komposisi pembuatan diet tinggi lemak untuk sediaan 2,5 kg dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Komposisi untuk 2,5 Kg Diet Tinggi Lemak (Handayani, 2012)

Komposisi	Jumlah
Tepung jagung	550 gram
Gula pasir	457,5 gram
Korvet	275 gram
Margarin	275 gram
Minyak kedelai	130 gram
Gelatin	130 gram
Kasein	335 gram
CMC	132,5 gram
Vitamin dan mineral	25 butir
Air	375 gram
Asam kolat	5 gram

Kebutuhan pakan tikus per hari = 25 gram/tikus/hari.

4.7.3 Pemaparan MSG pada Tikus

Monosodium Glutamat (MSG) dilarutkan dalam 1 ml aquades diberikan secara intragastrik menggunakan sonde lambung setiap pagi hari secara oral dengan dosis masing-masing sesuai kelompok selama 56 sampai 61 hari.

4.7.4 Perlakuan terhadap Tikus

4.7.4.1 Adaptasi Hewan Coba

1. Sebelum dilakukan perlakuan, hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari dan diberi pakan normal. Masing-masing tikus mendapatkan 25 gram. Pakan dan minum diberikan secara *ab libitum*.
2. Setelah aklimatisasi, tikus dibiarkan selama 10 hari dengan pemberian pakan normal untuk mengetahui siklus estrus normal tikus dalam dua kali siklus.
3. Hewan coba sesuai dengan kriteria inklusi sebanyak 30 ekor tikus dibagi menjadi 6 kelompok dengan metode rancangan acak lengkap dilakukan agar setiap hewan coba berpeluang sama untuk mendapatkan kesempatan sebagai sampel baik dalam kelompok penelitian maupun dalam kelompok kontrol.

4.7.4.2 Penentuan Kelompok Perlakuan

Setelah diaklimatisasi, tikus putih *Rattus norvegicus* sebanyak 30 ekor dibagi menjadi 6 kelompok dengan metode rancangan acak lengkap yang terdiri dari:

- a. Tikus kelompok kontrol negatif (-): tikus yang diberi diet normal 25g/hari.
- b. Tikus kelompok kontrol positif (+) 1: tikus yang diberi diet tinggi lemak 25g/hari.

- c. Tikus kelompok kontrol positif (+) 2: tikus yang diberi diet normal dan MSG 0,7 mg/gBB yang dilarutkan dalam aquades 1 ml.
- d. Tikus kelompok Perlakuan 1 (P1): tikus yang diberi diet tinggi lemak + MSG 0,05 mg/gBB yang dilarutkan dalam aquades 1 ml.
- e. Tikus kelompok Perlakuan 2 (P2): tikus yang diberi diet tinggi lemak + MSG 0,2 mg/gBB yang dilarutkan dalam aquades 1 ml.
- f. Tikus kelompok Perlakuan 3 (P3): tikus yang diberi diet tinggi lemak + MSG 0,35 mg/gBB yang dilarutkan dalam aquades 1 ml.

Penentuan dosis didasarkan pada penelitian Megawati, *et al.*, (2004) yang melakukan percobaan pada tikus putih jenis *Rattus norvegicus* dengan memberikan MSG secara oral kepada 5 kelompok dengan perlakuan masing-masing adalah diberikan 1 ml aquades (kelompok I), MSG 77 mg/200 g BB dalam 1 ml aquades (kelompok II), MSG 98 mg/200 g BB dalam 1 ml aquades (kelompok III), MSG 119 mg/200 g BB dalam 1 ml aquades (kelompok IV), dan MSG 140 mg/200 g BB dalam 1 ml aquades (kelompok V). Hasil dari percobaan tersebut adalah pada kelompok II tidak terlihat perbedaan pada siklus estrus tikus yang signifikan dibandingkan dengan kelompok I, sedangkan percobaan III, IV dan V menunjukkan pola fase diestrus yang relatif singkat dan fase proestrus serta estrus lebih panjang. Percobaan V juga menunjukkan bahwa jumlah folikel sekunder dan korpus luteum menurun serta folikel atresia jumlahnya meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kelompok I. Kelompok II, III, dan IV tidak menunjukkan penurunan yang signifikan walaupun jumlah dari folikel sekunder dan korpus luteum lebih sedikit dibandingkan kelompok I, dan jumlah folikel atresi meningkat dibandingkan kelompok I.

Percobaan sebelumnya dengan dosis tertinggi yaitu 140 mg/200 g BB atau 0,7 mg/gBB menunjukkan terjadinya penurunan jumlah folikel sekunder dan korpus luteum serta peningkatan jumlah folikel atresia digunakan sebagai dasar untuk menentukan dosis kelompok kontrol positif perlakuan. Sedangkan, kelompok perlakuan diambil dosis yang lebih rendah dari kelompok kontrol perlakuan karena diasumsikan bahwa dosis MSG rendah yang dikombinasikan dengan diet tinggi lemak akan berpengaruh terhadap sistem reproduksi.

4.7.4.3 Proses Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Setiap tikus ditempatkan pada sebuah kandang yang berupa *box* plastik yang diisi dengan sekam, ditutup dengan kawat kasa, dan diberi botol air.
- b. Sebelum perlakuan, berat badan tikus ditimbang, yaitu pada awal masa adaptasi sehingga dapat dipantau berat badan tikus.
- c. Pemberian diet tinggi lemak diberikan sebagai pakan tikus.
- d. Pemberian MSG dilakukan melalui sonde lambung sesuai dengan takaran pada tiap kelompok. Hal ini dilakukan untuk menjaga dosis pemberian MSG pada tikus.
- e. Dilakukan penimbangan bahan makanan pada tikus tiap kelompok perlakuan setiap hari untuk mengetahui *intake* makanan tikus.
- f. Perlakuan pada tikus dilakukan secara bersamaan selama 56-61 hari dan sekam diganti setiap 2 kali dalam 1 minggu atau bila telah kotor.
- g. Pada akhir penelitian setelah 56-61 hari semua tikus ditimbang berat badannya untuk selanjutnya dibedah pada fase proestrus dan dilakukan pengambilan organ untuk mengecek gambaran histologi.

4.7.4.4 Penentuan Fase Estrus dan Waktu Pembedahan

Waktu pembedahan didasarkan pada fase estrus. Penentuan fase estrus ini menggunakan pemeriksaan swab vagina pada hari ke-56 paparan. Langkah-langkah pengambilan swab vagina adalah: mempersiapkan *cotton buds*, kaca objek, *cover glass*, alkohol, giemsa, dan mikroskop. Masukkan *cotton buds* ke lubang vagina untuk mendapatkan lendir, lalu letakkan lendir pada kaca objek dan diberi alkohol selama 3 menit, kemudian ditetesi giemsa 5 menit setelah itu dicuci dengan air. Slide swab vagina diperiksa menggunakan mikroskop untuk menentukan fase proestrus. Pada penelitian ini pembedahan dilakukan pada fase proestrus karena fase ini merupakan fase folikuler pada tikus wistar betina, dimana pada fase ini ovarium dalam keadaan proliferasi dan terjadi peningkatan estrogen. Apabila pada hari ke-56 ada tikus yang belum mencapai fase proestrus, maka penelitian tetap dilanjutkan kurang lebih 4-5 hari sampai mencapai fase proestrus yaitu sampai pada hari ke 61.

4.7.5 Prosedur Pengerjaan Preparat Histo Patologi

1. Proses pematangan jaringan

Sebelum dibedah, tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan injeksi ketamin sebanyak 0,2 ml. Tikus dibiarkan lemas, kemudian dibedah dan diambil organ ovariumnya, dibersihkan dengan *Phospat Buffer Saline* (PBS). Jaringan atau spesimen harus sudah terfiksasi dengan formalin 10% atau dengan *buffer* formalin 10% minimal selama 7 jam sebelum dilakukan proses pengerjaan berikutnya. Jaringan (ovarium) dipilih yang terbaik sesuai dengan lokasi yang akan diteliti. Jaringan dipotong \pm ketebalan 2-3 milimeter, lalu dimasukkan ke kaset dan diberi kode sesuai dengan kode gross peneliti. Jaringan kemudian diproses dengan alat *Automatic Tissue Tex Prosesor* atau

dengan cara manual selama 90 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

2. Proses pengeblokan dan pemotongan jaringan

Jaringan diangkat dari mesin *Tissue Tex Prosesor*, kemudian diblok dengan paraffin sesuai kode jaringan. Jaringan dipotong dengan alat *microtome* dengan ketebalan 3-5 mikron (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

3. Proses deparafinisasi

Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron, jaringan di letakkan dalam oven selama 30 menit dengan suhu panas 70-80 derajat, kemudian di masukan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit. Setelah itu di masukan ke dalam 4 tabung alkohol, masing-masing tempat 3 menit (hidrasi), dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

4. Proses pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

Pada proses pewarnaan dengan HE, potongan jaringan dimasukkan ke dalam cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit, alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celupan, ammonia lithium karbonat sebanyak 3-5 celupan, dan ke dalam eosin selama 10-15 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

5. Proses dehidrasi dengan alkohol bertingkat

Pada tahap dehidrasi, jaringan dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, dan ke dalam alkohol absolut selama 3 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

6. Proses penjernihan (*clearing*)

Jaringan dimasukkan ke dalam larutan xylol selama 15 menit sebanyak 2 kali (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

7. *Mounting* dengan entelan dan *deckglass*

Slide atau kaca objek ditutup dengan *cover glass* dan dibiarkan kering pada suhu ruangan. Setelah kering slide siap untuk diamati dengan mikroskop (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

4.7.6 Pengamatan Histologi Ovarium Tikus dan Kongesti Pembuluh Darah Medula Ovarium

Pengukuran diameter pembuluh darah yang mengalami kongesti, yaitu pembuluh darah arteri (8 μm) dan pembuluh darah vena (20 μm) pada medula ovarium dengan satu irisan preparat pada setiap ovarium kanan dan kiri kemudian hasil dari setiap ovarium kanan dan kiri dirata-rata, dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali dan pada 6 lapang pandang pada pemeriksaan HE (Zachary dan McGavin, 2012).

4.8 Analisis Data

Pengambilan data dan analisa dilakukan setelah 56 hari penelitian. Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 19.0 for Windows* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p < 0,05$). Jika nilai p (p values) $> 0,05$ dikatakan tidak signifikan, dan jika p values $< 0,01$ dikatakan sangat signifikan. Langkah-langkah uji data adalah sebagai berikut:

- a. Uji normalitas data: bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki sebaran/distribusi yang normal atau tidak. Penyajian data yang terdistribusi normal menggunakan *mean* dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran

pemusatan dan penyebaran. Penyajian data yang tidak terdistribusi normal menggunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Apabila distribusi/sebaran data normal, maka uji hipotesis menggunakan uji parametrik, sedangkan jika sebaran data yang tidak normal, maka uji hipotesis menggunakan uji non-parametrik. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini adalah uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50 ($n \leq 50$). Data dikatakan memiliki persebaran normal jika $p > 0,05$ (Hanafiah, 2012).

- b. Uji homogenitas varian (menggunakan uji Levene): jika varian dalam kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova telah terpenuhi. Pada penelitian ini menggunakan uji Levene. Data dikatakan memiliki varian yang homogen apabila nilai signifikansinya $p > 0,05$ (Hanafiah, 2012).
- c. Uji *One Way ANOVA* (*Analysis of Variance*): bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan. Perbedaan pada kedua kelompok dianggap signifikan bila $p < 0,05$ (Hanafiah, 2012).
- d. *Post hoc test*: untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji ANOVA. Uji Pos Hoc yang digunakan adalah uji LSD dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0,05$) (Hanafiah, 2012).

4.9 Etik Penelitian

Dalam memanfaatkan hewan percobaan untuk penelitian kesehatan dilakukan prinsip 3 R 5 F yaitu (Santoso, 2011):

- 1) *Replacement*: dalam penelitian ini, digunakan hewan coba sebagai subjek untuk memperoleh bukti efek kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap kongesti pembuluh darah medula ovarium.
- 2) *Reduction*: penelitian ini menggunakan jumlah sampel hewan coba minimal berdasarkan rumus Notoadmodjo (2010) yaitu $p(n-1) \geq 15$ dengan p: jumlah perlakuan, n: jumlah ulangan. Jumlah perlakuan sebanyak 6, jadi dilakukan minimal 4 kali pengulangan untuk masing-masing kelompok. Untuk setiap perlakuan diberikan penambahan 1 kali pengulangan sebagai cadangan, sehingga total sampel yang dibutuhkan adalah 5 ekor tikus x 6 kelompok = 30 ekor tikus.
- 3) *Refinement* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi. Prinsip *refinement* berarti membebaskan hewan coba dari beberapa kondisi, yaitu:
 - a) *Freedom from hunger and thirst*

Memastikan hewan coba tidak kelaparan dan kehausan dengan memberikan makan dan minum secara teratur setiap hari dengan memperhatikan komposisi sesuai dengan kelompok perlakuan serta memantau konsumsi makanan setiap hari.
 - b) *Freedom from pain*

Selama perlakuan hewan coba diberikan MSG melalui sonde lambung dengan cara memegang hewan coba pada bagian tengkuk secara hati-hati namun mantap menggunakan ibu jari dan telunjuk sehingga kepala tikus tidak bergerak dan sonde lambung dapat dimasukkan. Pada saat pembedahan untuk mengurangi rasa sakit pada hewan dilakukan anastesi terlebih dahulu sebelum pembedahan.

c) *Freedom from injury and disease*

Hewan coba tidak diberikan perlakuan yang menimbulkan nyeri dan penyakit secara langsung. Hewan coba akan menjalankan program kesehatan, pencegahan, dan pemantauan, serta pengobatan jika diperlukan dengan catatan pengobatan penyakit tidak mengganggu penelitian.

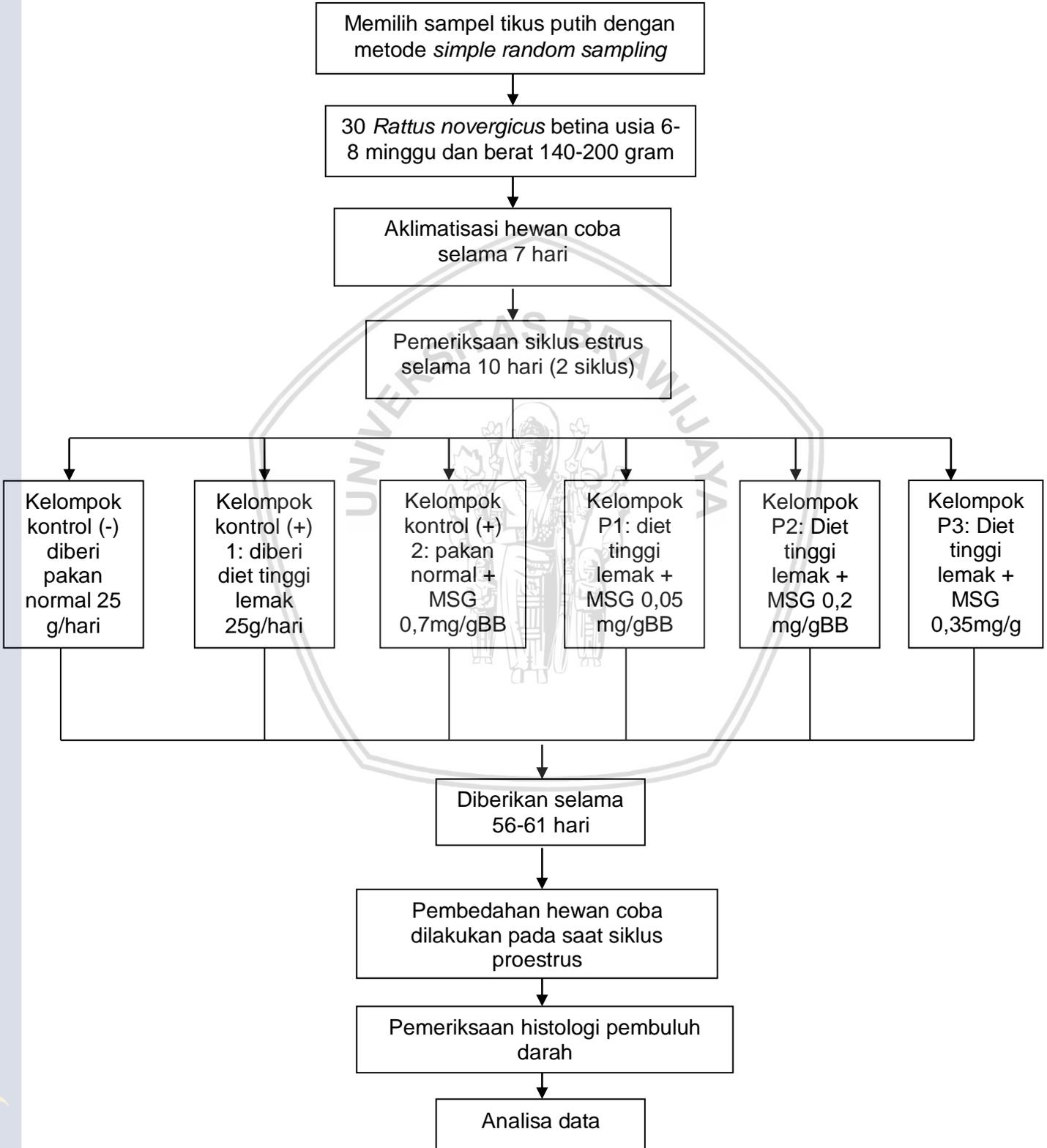
d) *Freedom from distress and feeling discomfort*

Melakukan adaptasi hewan coba pada 7 hari pertama. Tikus diadaptasi di laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 7 hari dan kemudian dibagi secara acak ke dalam 6 kelompok. Selama adaptasi tikus diberi pakan standar atau diet normal. Selanjutnya, selama perlakuan dilakukan perawatan kandang pada hewan coba, pembersihan kandang, dan penggantian sekam dilakukan setiap 2 kali dalam 1 minggu dengan memperhatikan cahaya, suhu, dan kelembaban.

e) *Freedom to express their normal behavior*

Memberikan ruang dan fasilitas kepada hewan coba yang sesuai dengan kehidupan biologi dan tingkah laku tikus, maka dalam penelitian ini menempatkan hewan secara individu dalam setiap kandang.

4.10 Skema Alur Penelitian

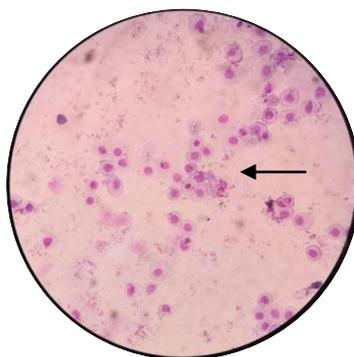


BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Faal dan Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang mulai bulan Agustus sampai dengan November 2017. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan 24 ekor tikus *Rattus novergicus* sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi kemudian dilakukan pemaparan pada setiap kelompok percobaan dengan menggunakan diet tinggi lemak dan Monosodium Glutamat (MSG). Hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol negatif (diberikan pakan normal dan tanpa pemberian dosis MSG), kelompok kontrol positif 1 (diberikan diet tinggi lemak sebanyak 25 gram), kelompok kontrol positif 2 (diberikan pakan normal dan MSG dosis 0,7 mg/gBB), kelompok perlakuan 1 (diberi diet tinggi lemak 25 gram dan MSG dosis 0,05 mg/gBB), kelompok perlakuan 2 (diberi diet tinggi lemak 25 gram dan MSG dosis 0,20 mg/gBB), kelompok perlakuan 3 (diberi diet tinggi lemak 25 gram dan MSG dosis 0,35 mg/gBB). Perlakuan diberikan secara oral dan dilakukan selama 56 hari. Pada 7 hari terakhir yaitu pada hari ke 49-56 hari dilakukan swab vagina pada tikus untuk menentukan siklus estrus tikus, pada tikus dengan siklus proestrus mulai hari ke-56 maka dilakukan pembedahan. Tikus yang belum mencapai siklus proestrus tetap dilanjutkan perlakuan hingga mencapai siklus proestrus untuk dibedah (gambar 5.1).



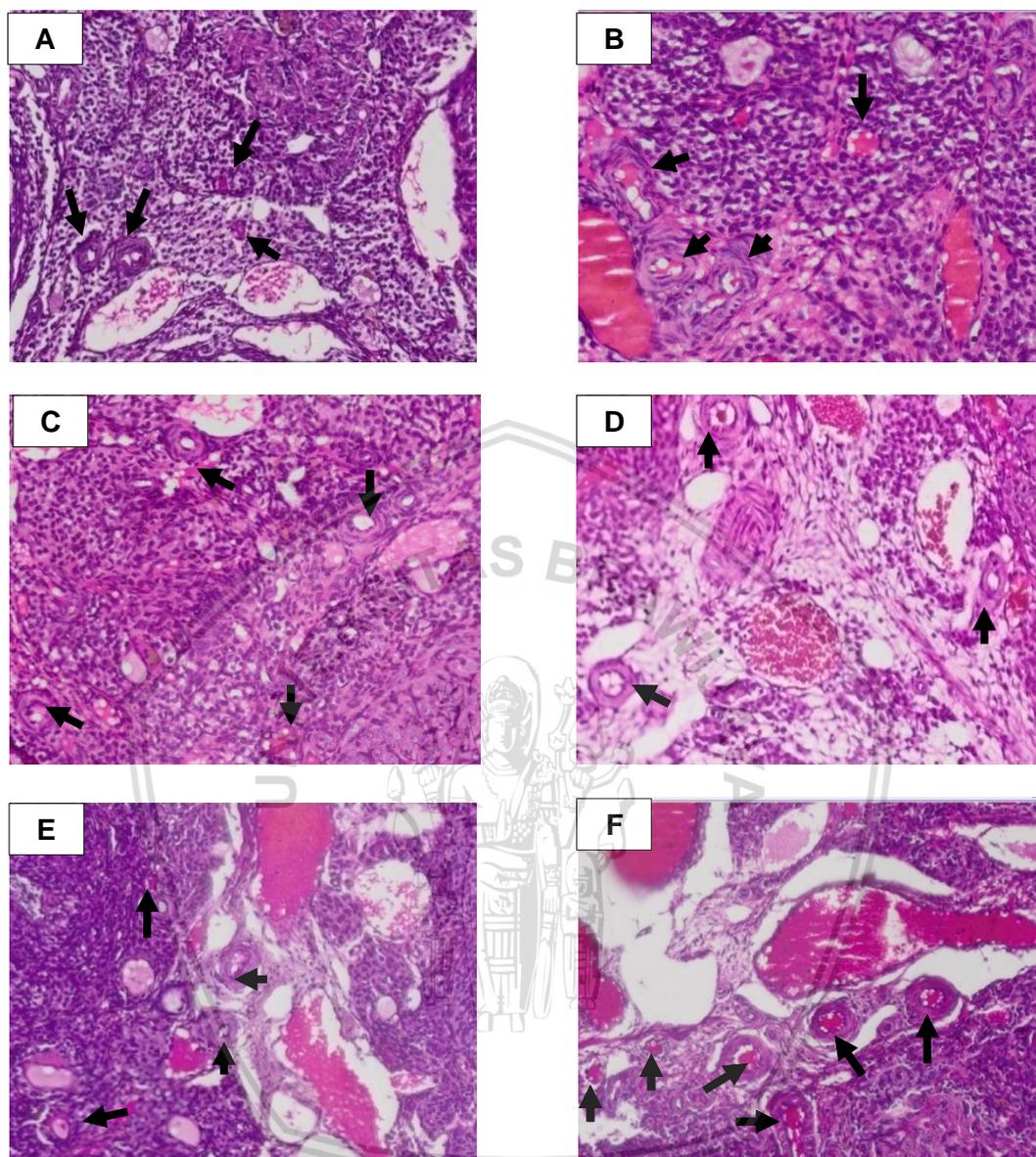
Gambar 5.1 Fase Proestrus pada Tikus *Rattus norvegicus*

Fase estrus tikus dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali melalui preparat hapusan vagina dan pewarnaan giemsa. Tanda panah menunjukkan fase proestrus tikus yang ditandai dengan adanya sel epitel dengan banyak lapisan, tidak ada sel epitel bertanduk, dan tanpa atau sedikit leukosit.

Setelah dilakukan pembedahan, organ ovarium dibuat menjadi preparat histopatologi dengan pengecatan Haemotoksilin Eosin. Preparat histopatologi ovarium tersebut digunakan untuk melihat pembuluh darah arteri dan vena yang mengalami pelebaran atau kongesti dengan dilakukan pengukuran diameter pembuluh darah arteri dan juga vena menggunakan mikroskop cahaya merk *Olympus XC 10* dengan perbesaran 400 kali pada 6 lapang pandang setiap irisan. Diameter arteri yang berukuran $> 8 \mu\text{m}$ dan diameter vena yang berukuran $> 20 \mu\text{m}$ dicatat sebagai kongesti atau pelebaran pembuluh darah medula ovarium.

5.2 Hasil Pengukuran Diameter Pembuluh Darah Arteri Ovarium

Dilakukan pengamatan preparat dengan menggunakan mikroskop cahaya merk *Olympus XC 10* perbesaran 400 kali. Tampak arteri berbentuk bulat dan mempunyai tunika intima yang terdiri atas endotel dan membran elastika interna dengan lumen yang berdiameter cukup besar ($\pm 2 \mu\text{m}$) dan terutama terdiri dari serat otot polos sehingga memungkinkan untuk bersifat elastis (gambar 5.2).

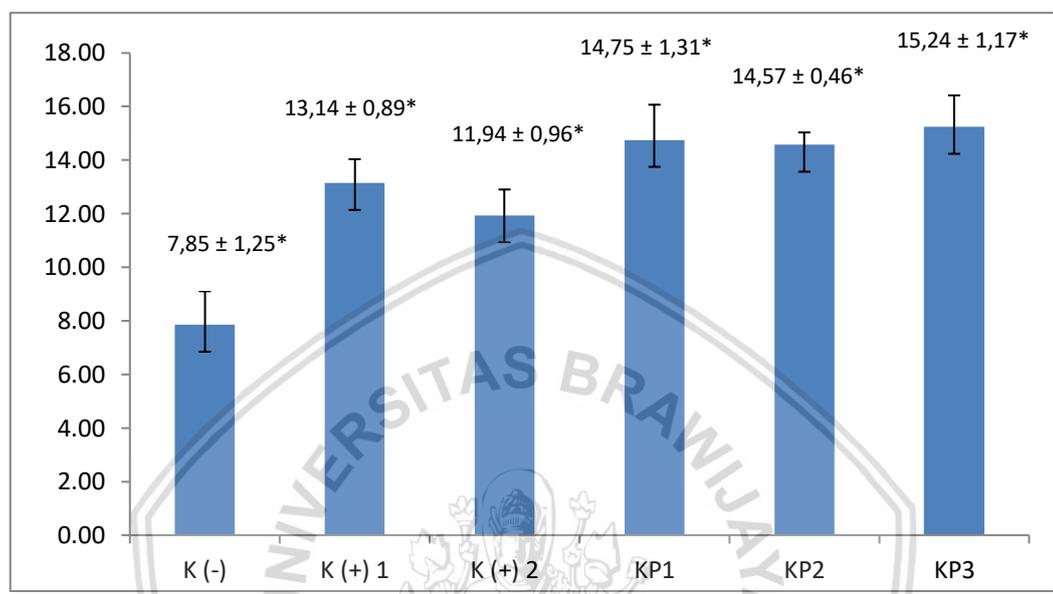


Gambar 5.2 Pembuluh Darah Arteri pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Gambar Penampang ovarium dari 1 irisan yang dilihat dengan mikroskop cahaya merk *Olympus XC 10* pada 6 lapang pandang masing-masing kelompok perlakuan A (kelompok kontrol negatif dengan pemberian diet normal), B (kelompok kontrol positif 1 dengan pemberian diet tinggi lemak), C (kelompok kontrol positif 2 dengan pemberian MSG 07 mg/gBB), D (kelompok perlakuan 1 dengan pemberian DTL dan MSG 0,05 mg/gBB), E (kelompok perlakuan 2 dengan DTL dan MSG 0,2 mg/gBB) dan F (kelompok perlakuan 3 dengan pemberian DTL dan MSG 0,35 mg/gBB). Panah tebal menunjukkan pembuluh darah arteri yang dikelilingi oleh cincin tunika intima, tunika media dan tunika adventisia dengan otot polos tebal ($\pm 2 \mu\text{m}$). Pembuluh darah arteri yang mengalami kongesti ditunjukkan dengan panah pada gambar B, C, D, E, dan F dengan lebar $> 8 \mu\text{m}$.

Hasil pengukuran diameter arteri dari preparat organ ovarium yang diamati menggunakan mikroskop cahaya merk *Olympus XC 10* perbesaran 400

kali pada 6 lapang pandang dalam 1 irisan masing-masing ovarium kanan dan ovarium kiri yang kemudian dirata-rata hasilnya ditampilkan pada grafik 5.3, sebagai berikut:



Gambar 5.3 Rerata Diameter Arteri Ovarium

Diagram 5.3 Grafik menunjukkan rata-rata diameter arteri dari ovarium kanan dan kiri, ± standar deviasi yang menunjukkan bahwa terdapat kenaikan rata-rata diameter pembuluh darah arteri ovarium pada kelompok kontrol positif (K (+) 1 dan K (+) 2) maupun kelompok perlakuan (KP1, KP2, KP3) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K(-)) dengan satuan µm.

Pengujian rata-rata diameter pembuluh darah arteri ovarium menggunakan uji *one way ANOVA* dengan menggunakan aplikasi *SPSS 19.0 for Windows*. Sebelum dilakukan uji *one way ANOVA* dilakukan uji prasyarat yakni uji normalitas dan homogenitas ragam. Pengujian normalitas dilakukan dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk dengan hasil menunjukkan p-value lebih dari 0,05. Sedangkan hasil uji homogenitas ragam yang dilakukan menggunakan uji Levene menunjukkan hasil yang normal juga ($p > 0,717$) dengan p-value lebih dari 0,05. Sehingga, dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa syarat normalitas dan homogenitas ragam telah terpenuhi. Hasil uji homogenitas ragam ditunjukkan pada tabel 5.1.



Tabel 5.1 Uji Homogenitas Ragam Diameter Arteri

Variabel	Koefisien	p-value	Keterangan
Diameter Arteri	0,577	0,717	Signifikan

Hasil dari pengujian data statistik menggunakan *oneway* ANOVA untuk mengetahui pengaruh MSG yang dikombinasikan dengan diet tinggi lemak terhadap pelebaran atau kongesti pembuluh darah arteri ovarium menunjukkan hasil yang signifikan ($p = 0,000$) dengan $p\text{-value} < 0,05$. Sedangkan hasil uji data statistik *one way* ANOVA untuk membandingkan pengaruh kombinasi MSG dan diet tinggi lemak dengan kelompok kontrol menunjukkan hasil yang signifikan juga ($p = 0,002$). Sehingga dari pengujian data ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian MSG dan diet tinggi lemak terhadap pelebaran atau kongesti pembuluh darah arteri ovarium dibandingkan dengan yang tidak mengkonsumsi MSG dan diet tinggi lemak. Selain itu, terdapat pengaruh yang signifikan juga pada kelompok dengan kombinasi MSG dengan diet tinggi lemak terhadap pelebaran atau kongesti pembuluh darah arteri ovarium jika dibandingkan dengan kelompok yang hanya mendapatkan MSG saja atau diet tinggi lemak saja.

Uji statistik untuk mengetahui perbedaan rata-rata diameter pembuluh darah arteri yaitu menggunakan *post hoc test* dengan uji LSD. Hasil perbandingan statistik rata-rata diameter pembuluh darah arteri antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Uji LSD Rerata Diameter Pembuluh Darah Arteri Ovarium

<i>p-value</i>	K(-)	K(+) ¹	K(+) ²	KP1	KP2	KP3
K(-)		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K(+) ¹			0,123	0,045*	0,072	0,012*
K(+) ²				0,001*	0,002*	0,000*
KP1					0,809	0,521
KP2						0,381
KP3						

p-value < 0,05 adalah bermakna (*)

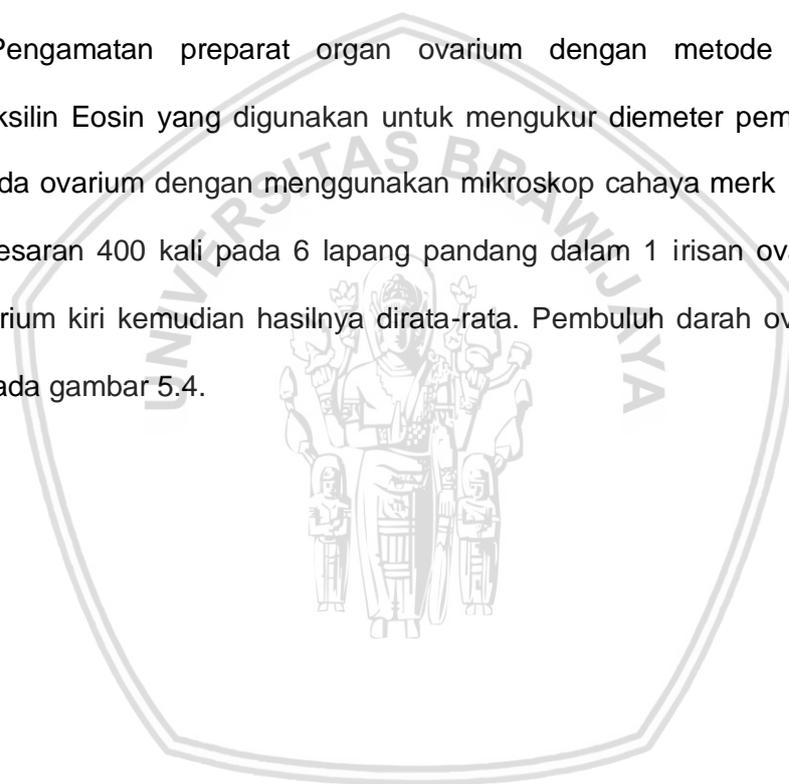
Tabel 5.2 memperlihatkan hasil dari rata-rata diameter pembuluh darah arteri medula ovarium dimana kelompok kontrol positif 1 (K + 1), kelompok kontrol positif 2 (K + 2), kelompok perlakuan 1 (KP1), kelompok perlakuan 2 (KP2), dan kelompok perlakuan 3 (KP3) menunjukkan hasil yang signifikan (*p-value* < 0,05) jika dibandingkan dengan rata-rata diameter kelompok kontrol negatif (k-) yang membuktikan bahwa pemberian diet tinggi lemak, MSG, ataupun kombinasi dari DTL dan MSG berpengaruh terhadap pelebaran pembuluh darah arteri medula ovarium tikus.

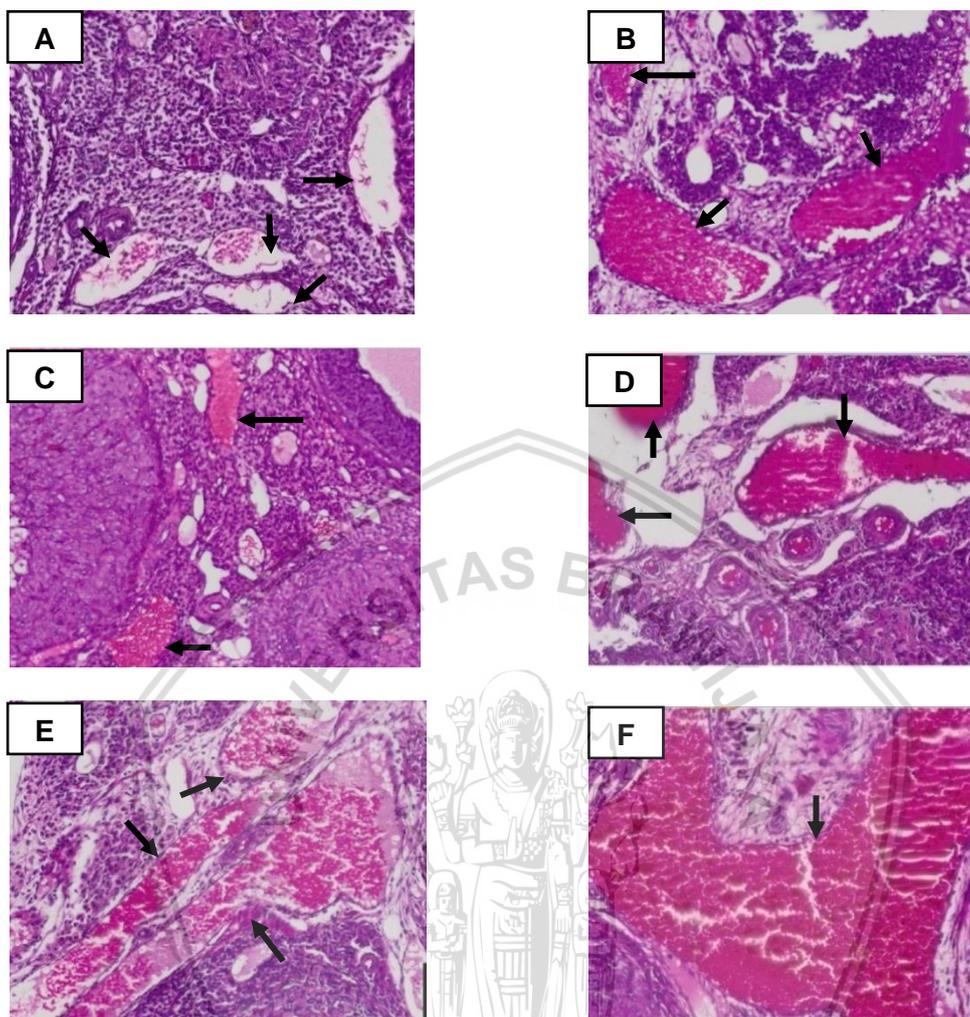
Rata-rata diameter pembuluh darah arteri pada kelompok kontrol positif 1 (K + 1) dan kelompok kontrol positif 2 (K + 2) menunjukkan hasil yang tidak bermakna ($p = 0,123$) yang membuktikan bahwa tidak ada yang lebih berpengaruh antara pemberian diet tinggi lemak saja atau pemberian MSG saja terhadap pelebaran pembuluh darah arteri medula ovarium. Rata-rata pembuluh darah pada kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 terhadap kelompok kontrol positif 1 maupun kelompok kontrol positif 2 bermakna ($p < 0,05$), kecuali pada kelompok perlakuan 2 yang menunjukkan hasil tidak bermakna ($p = 0,072$) terhadap kelompok kontrol positif 1, yang menunjukkan bahwa pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG lebih berpengaruh terhadap pelebaran pembuluh darah medula ovarium tikus dibandingkan dengan pemberian DTL saja atau MSG saja.

Perbandingan rata-rata diameter pembuluh darah arteri pada kelompok perlakuan 1 ($p = 0,809$), perlakuan 2 ($p = 0,521$), dan perlakuan 3 ($p = 0,381$) menunjukkan hasil yang tidak bermakna ($p > 0,05$) yang berarti bahwa tidak ada perbedaan pengaruh yang signifikan terhadap pelebaran pembuluh darah arteri medula ovarium pada penambahan dosis MSG.

5.3 Hasil Pengukuran Diameter Pembuluh Darah Vena Ovarium

Pengamatan preparat organ ovarium dengan metode pengecatan Hematoksilin Eosin yang digunakan untuk mengukur diameter pembuluh darah vena pada ovarium dengan menggunakan mikroskop cahaya merk *Olympus XC 10* perbesaran 400 kali pada 6 lapang pandang dalam 1 irisan ovarium kanan dan ovarium kiri kemudian hasilnya dirata-rata. Pembuluh darah ovarium dapat dilihat pada gambar 5.4.

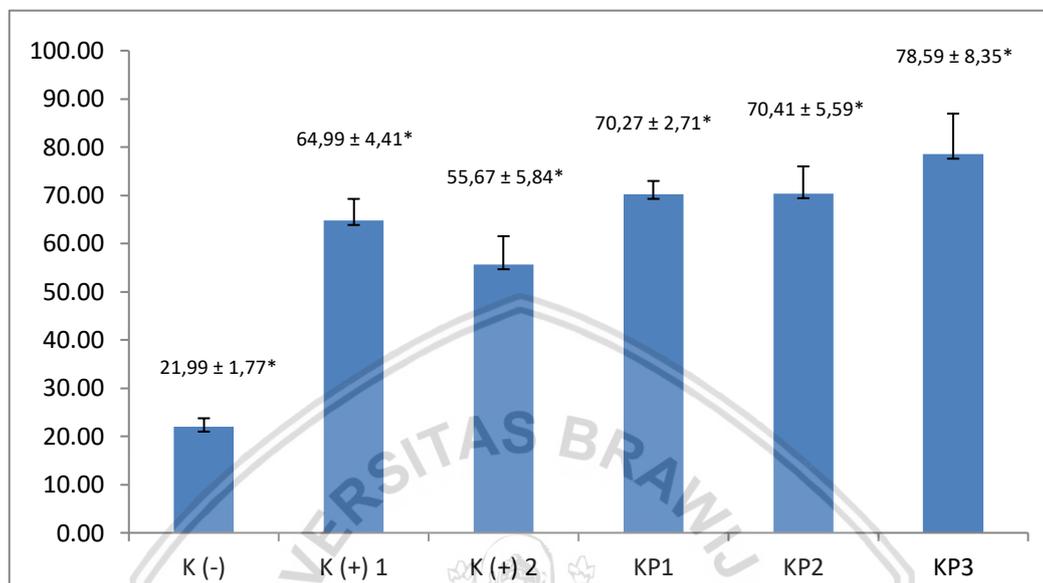




Gambar 5.4 Pembuluh Darah Vena pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Gambar Penampang ovarium dari 1 irisan pada ovarium kanan dan ovarium kiri, kemudian hasilnya dirata-rata yang dilihat dengan mikroskop cahaya merk *Olympus XC 10* pada 6 lapang pandang masing-masing kelompok perlakuan A (kelompok kontrol negatif dengan pemberian diet normal), B (kelompok kontrol positif 1 dengan pemberian diet tinggi lemak), C (kelompok kontrol positif 2 dengan pemberian MSG 07 mg/gBB), D (kelompok perlakuan 1 dengan pemberian DTL dan MSG 0,05 mg/gBB), E (kelompok perlakuan 2 dengan pemberian DTL dan MSG 0,2 mg/gBB) dan F (kelompok perlakuan 3 dengan pemberian DTL dan MSG 0,35 mg/gBB). Panah tebal menunjukkan pembuluh darah vena ovarium yang berwarna merah, terdapat otot polos, tunika intima, tunika media dan tunika adventisia yang tipis ($\pm 1 \mu\text{m}$). kongesti pembuluh darah vena ovarium ditunjukkan dengan panah pada gambar B, C, D, E, dan F dengan lebar $> 20 \mu\text{m}$.

Hasil pengukuran diameter vena ovarium kanan dan kiri yang telah dirata-rata menggunakan mikroskop cahaya terdapat pada grafik 5.5.



Gambar 5.5 Rerata Diameter Pembuluh Darah Vena

Diagram 5.5 Garfik menunjukkan rata-rata diameter vena pada ovarium kanan dan kiri, \pm standar deviasi yang menunjukkan bahwa terdapat kenaikan rata-rata diameter pembuluh darah vena ovarium pada kelompok kontrol positif (K (+) 1 dan K (+) 2) maupun kelompok perlakuan (KP1, KP2, KP3) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K(-)) dengan satuan μm .

Pengaruh MSG dan diet tinggi lemak terhadap pembuluh darah vena diuji dengan menggunakan *one way* ANOVA. Sebelum dilakukan uji ANOVA dilakukan uji prasyarat yakni uji normalitas dan homogenitas ragam. Pengujian normalitas dilakukan dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk dengan hasil menunjukkan *p-value* lebih dari 0,05. Sedangkan uji homogenitas ragam menunjukkan hasil yang normal juga ($p = 0,092$) yang menunjukkan *p-value* lebih dari 0,05. Sehingga, dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa syarat normalitas dan homogenitas ragam telah terpenuhi. Hasil uji Levene ditunjukkan dalam tabel 5.3.

Tabel 5.3 Uji Homogenitas Ragam Diameter Vena

Variabel	Koefisien	p-value	Keterangan
Diameter Vena	2,261	0,092	Signifikan

Pengaruh pemberian diet tinggi lemak dan Monosodium Glutamat (MSG) diuji dengan *one way* ANOVA dan menunjukkan hasil yang signifikan ($p = 0,000$) yaitu $p\text{-value} < 0,05$. Sedangkan hasil untuk membandingkan pengaruh kombinasi MSG dan diet tinggi lemak dengan kelompok kontrol menunjukkan hasil yang signifikan juga ($p = 0,001$). Sehingga dari pengujian data ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian MSG dan diet tinggi lemak terhadap pelebaran atau kongesti pembuluh darah vena ovarium dibandingkan dengan yang tidak mengonsumsi MSG dan diet tinggi lemak. Selain itu, terdapat pengaruh yang signifikan juga pada kelompok dengan kombinasi diet tinggi lemak dengan MSG terhadap pelebaran atau kongesti pembuluh darah vena ovarium jika dibandingkan dengan kelompok yang hanya mendapatkan diet tinggi lemak saja atau MSG saja.

Perbedaan rata-rata diameter pembuluh darah vena dilakukan dengan menggunakan *post hoc test* dengan uji LSD. Hasil perbandingan statistik rata-rata diameter pembuluh darah vena antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Uji LSD Rerata Diameter Pembuluh Darah Vena Ovarium

p-value	K(-)	K(+) 1	K(+) 2	KP1	KP2	KP3
K(-)		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K(+) 1			0,024*	0,161	0,151	0,002*
K(+) 2				0,001*	0,001*	0,000*
KP1					0,970	0,038*
KP2						0,040*
KP3						

$p\text{-value} < 0,05$ adalah bermakna (*)



Tabel 5.4 memperlihatkan hasil dari rata-rata diameter pembuluh darah vena medula ovarium dimana kelompok kontrol positif 1 (K + 1), kelompok kontrol positif 2 (K + 2), kelompok perlakuan 1 (KP1), kelompok perlakuan 2 (KP2), dan kelompok perlakuan 3 (KP3) menunjukkan hasil yang signifikan (p -value < 0,05) jika dibandingkan dengan rata-rata diameter kelompok kontrol negatif (k-) yang membuktikan bahwa pemberian diet tinggi lemak, MSG, ataupun kombinasi dari DTL dan MSG berpengaruh terhadap pelebaran pembuluh darah vena medula ovarium tikus.

Rata-rata diameter pembuluh darah vena pada kelompok kontrol positif 1 (K + 1) terhadap kelompok kontrol positif 2 (K + 2) menunjukkan hasil yang bermakna ($p = 0,024$) yang membuktikan bahwa pemberian diet tinggi lemak lebih berpengaruh terhadap terjadinya pelebaran pembuluh darah vena medula ovarium tikus dibandingkan dengan pemberian MSG saja. Rata-rata pembuluh darah pada kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 terhadap kelompok kontrol positif 1 tidak menunjukkan hasil yang bermakna yang berarti pemberian kombinasi DTL dan MSG dosis rendah tidak menunjukkan hasil yang berbeda signifikan jika dibandingkan dengan pemberian DTL saja. Sedangkan kelompok perlakuan 3 menunjukkan hasil yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif 2 ($p < 0,002$), yang membuktikan bahwa kombinasi diet tinggi lemak dan MSG lebih berpengaruh terhadap pelebaran pembuluh darah medula ovarium jika dibandingkan dengan pemberian DTL saja.

Pada kelompok perlakuan 1 ($p = 0,001$), perlakuan 2 ($p = 0,001$) dan 3 ($p = 0,000$) menunjukkan hasil yang bermakna jika dibandingkan dengan pemberian MSG, membuktikan bahwa penambahan dosis MSG yang dikombinasikan

dengan diet tinggi lemak lebih berpengaruh terhadap pelebaran pembuluh darah vena ovarium tikus dibandingkan dengan pemberian MSG saja.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan

Penelitian yang dilakukan pada tikus *Rattus novergicus* dengan memberikan perlakuan yaitu kombinasi diet tinggi lemak dan Monosodium Glutamat (MSG) berbagai dosis (0,05 mg/gBB; 0,2 mg/gBB; dan 0,35 mg/gBB) menunjukkan adanya pengaruh terhadap pelebaran atau kongesti pembuluh darah arteri maupun vena medula ovarium. Terdapat perbandingan yang signifikan pada rerata diameter arteri ($p = 0,000$) dan rerata diameter vena ($p = 0,000$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Sedangkan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, hasil untuk rerata diameter arteri ($p = 0,002$) dan rerata diameter vena ($p = 0,001$), menunjukkan hasil yang signifikan juga. Hal ini membuktikan bahwa kombinasi diet tinggi lemak dan MSG lebih berpengaruh terhadap pelebaran pembuluh darah dibandingkan dengan konsumsi diet tinggi lemak saja atau MSG saja. Hasil perbandingan rata-rata diameter pembuluh darah vena menunjukkan hasil yang signifikan antara kontrol positif 1 (diet tinggi lemak 25 gram) dan kontrol positif 2 (MSG 0,7 mg/gBB) ($p = 0,024$) yang menunjukkan pengaruh yang lebih banyak terhadap pelebaran pembuluh darah vena pada pemberian diet tinggi lemak dibandingkan dengan MSG.

Pelebaran atau kongesti pembuluh darah arteri dan vena pada ovarium dapat disebabkan karena terjadinya stres oksidatif akibat penurunan estrogen sehingga terjadi penyerapan LDL oleh hati dan LDL dalam darah meningkat. *Low*

Density Lipoprotein (LDL) yang teroksidasi menstimulasi peningkatan pembentukan radikal bebas oksigen yang dikeluarkan oleh makrofag yang dapat meningkatkan akumulasi monosit dan sel darah putih. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya disfungsi endotel sehingga aliran darah dapat tersumbat atau mengalami kemacetan. Adanya sumbatan dan tekanan dapat menyebabkan peningkatan filtrasi aliran darah sehingga dinding pembuluh darah yang banyak terdapat otot polos merespon dengan cara melebar. Pembuluh darah yang mengalami kongesti ini berwarna merah tua dan mengalami pelebaran (Zachary dan McGavin, 2012).

Penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian sebelumnya oleh Oladipo, *et al.*, (2015) pada tikus *Sprague dawley* betina yang diberikan dosis MSG 0,20 g/kgBB selama 14 hari dan menunjukkan adanya perubahan pada ovarium yaitu adanya hipertrofi sel, jumlah folikel menurun, vakuolasi sel dan kongesti pembuluh darah vena pada medulla ovarium. Percobaan lainnya menyebutkan bahwa MSG dapat merusak *nucleus arkuata* di hipotalamus dan dapat menyebabkan penurunan densitas, volume, ukuran serta sekresi kortikotropin, tirotropin, *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) gonadotropin. Gangguan hormonal dapat menyebabkan gangguan dalam proses perkembangan dan pembentukan sel benih (ovum) melalui proses oogenesis. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) berfungsi untuk merangsang perkembangan folikel di dalam ovarium sampai terjadi ovulasi dan *Luteinizing Hormone* (LH) berperan dalam perkembangan korpus luteum, mempertahankan dan merangsang korpus luteum untuk menghasilkan hormon progesteron. Keterbatasan LH dan FSH dalam menstimulasi organ target yakni ovarium dalam melakukan regulasi hormonal

secara langsung dapat berakibat pada penurunan kadar estrogen dan progesteron. Penurunan kadar estrogen dapat mengurangi jumlah reseptor *Low Density Lipoprotein* (LDL) di hepar sehingga jumlah LDL dalam darah akan meningkat, keadaan ini dapat mencetuskan kongesti pembuluh darah pada medula ovarium. Kelainan pada fungsi ovarium biasanya menyebabkan anovulasi dan bisa menyebabkan gangguan menstruasi pada perempuan (Eweka, *et al.*, 2011). Selain itu, stres oksidatif berpengaruh terhadap peningkatan prostaglandin yang dapat mempengaruhi elastisitas dan kontraksi otot polos pembuluh darah yang dapat memungkinkan pelebaran pembuluh darah (Oladipo, *et al.*, 2015). Begitu juga dengan diet tinggi lemak yang dapat meningkatkan LDL dan efeknya lebih besar daripada MSG (Kumar, *et al.*, 2007).

Percobaan sebelumnya oleh Al-Mosaibih (2013) pada 40 ekor tikus wistar jantan usia 8-10 minggu dengan berat rata-rata 220 gram yang diinduksi Monosodium Glutamat (MSG) sebanyak 30 mg/KgBB/hari melalui injeksi selama 4 minggu membuktikan adanya kongesti pembuluh darah vena pada organ hepar. Pemberian dosis MSG kronis (> 4 mg/gBB) dapat menyebabkan stres oksidatif pada hewan coba dan dapat menghasilkan radikal bebas yang berasal dari oksigen yang dapat menyebabkan perubahan pada parenkim hepar tikus di sekitar vena sentral, kongesti pembuluh darah vena, dan inflamasi sel. Induksi MSG pada tikus wistar menyebabkan asupan energi meningkat dan dapat menyebabkan obesitas atau mengubah kadar metabolisme karbohidrat, lipid, protein, degenerasi lemak dan perubahan pembuluh darah mikro di hepar. Terdapat hubungan yang kuat antara obesitas dan peradangan serta oedematis jaringan hati. Penelitian ini juga menemukan adanya limfosit dan makrofag dalam vena sentral, dimana adanya makrofag merupakan tanda

adanya peradangan kronis. Makrofag dapat menghancurkan penyebab kerusakan sel dan jaringan yang terluka, sementara limfosit menghasilkan antitoksin dan mempercepat penyembuhan sel dengan menutup luka. Sehingga dapat membuat plak pada pembuluh darah (Al-Mosaibih, 2013).

Selain pemberian Monosodium Glutamat (MSG), penelitian sebelumnya membuktikan bahwa pemberian diet tinggi lemak dapat menyebabkan kongesti pembuluh darah arteri hepar. Diet tinggi lemak yang mengandung kadar kolesterol 1,6% diberikan pada kelinci jantan usia 4 bulan dengan berat rata-rata 1,5 kg selama 30 hari dan mendapatkan hasil yaitu terjadinya pelebaran sinusoid dan fibrosis jaringan portal, proliferasi saluran empedu dan pelebaran atau kongesti pembuluh darah portal yang terjadi akibat adanya plak pada pembuluh darah. Keadaan hiperkolesterolemia menyebabkan akumulasi kolesterol dan trigliserida di dalam hepatosit sebagai liposom di sekitar nukleus. Selain itu, diet tinggi lemak juga menyebabkan terjadinya peningkatan kadar kolesterol total serum, trigliserida, LDL yang menyebabkan terjadinya fibrosis pada daerah portal, proliferasi saluran empedu dan pembuluh darah, dan ditemukan banyak terdapat protein dalam lumen pembuluh darah dan saluran empedu. Peningkatan kadar kolesterol dalam darah dapat menyebabkan *Fatty Liver Disease* (FLD) yang dapat menyebabkan terjadinya pelebaran atau kongesti pada arteri hepar dan terjadinya aterosklerosis di arteri. *Fatty Liver Disease* (FLD) dianggap sebagai penyebab utama penyakit hati kronis (Okhti, *et al.*, 2016).

Terjadinya kongesti pembuluh darah baik pada arteri maupun vena di medula ovarium memiliki banyak kerugian terutama pada kesehatan dan organ reproduksi. Kongesti atau pelebaran pembuluh darah arteri ovarium dapat menyebabkan nekrosis yang menyebar, fibrosis pada korteks dan medula

ovarium, degenerasi folikel primer dan folikel de graaf di stroma ovarium dan peningkatan folikel atretik serta penurunan jumlah korpus luteum. Pembuluh darah arteri ovarium merupakan cabang dari aorta pada abdomen yang membawa aliran darah untuk memberi nutrisi pada indung telur. Penyumbatan arteri dapat menyebabkan kongesti pembuluh darah arteri dan menyebabkan degenerasi iskemik yang menunjukkan hilangnya viabilitas jaringan pada tingkat sel dan nekrosis, serta perubahan warna akibat adanya anemia lokal. Sehingga terjadinya kongesti atau pelebaran pembuluh darah pada arteri ovarium dapat mempengaruhi siklus estrus pada tikus dan memungkinkan terjadinya gangguan menstruasi pada manusia (Awasum, *et al.*, 2008).

Selain kongesti pada arteri, kongesti pada vena ovarium juga menyebabkan beberapa permasalahan. Kongesti vena ovarium dapat menyebabkan *Pelvic Venous Congestion Syndrome* (PVCS) yang dapat menyebabkan nyeri panggul kronis pada 13-14% wanita. *Pelvic Venous Congestion Syndrome* (PVCS) ini dapat terjadi karena dilatasi vena ovarium dan atau pelvis. Dinding pembuluh darah mengalami pelebaran maksimal dan menjadi kurang elastis serta katup menghentikan aliran darah karena ada kemacetan, darah dalam aliran tersebut berkumpul dan menyebabkan pembuluh darah melebar. Hal ini dapat menyebabkan varises panggul, bisa sampai sekitar vulva, vagina, dan kaki. Darah biasanya mengalir dari ovarium melalui vena ovarium. Vena ovarium kanan bergabung dengan vena kava inferior dan vena ovarium kiri bergabung dengan vena ginjal kiri. Ketika katup di vena berhenti bekerja atau ada penyumbatan pada aliran darah di pembuluh darah yang kembali ke jantung, darah kemudian mengalir ke belakang (menjauhi jantung). Hal ini dapat menyebabkan pelebaran darah vena di ovarium sehingga dapat

menyebabkan PVCS di ovarium, panggul, vulva, vagina hingga bagian kaki (Bittles dan Hoffer, 2008).

Penelitian ini baru dibuktikan pada hewan coba. Kekurangan pada penelitian ini adalah adanya kemungkinan perbedaan konsumsi diet tinggi lemak antara manusia dengan tikus, baik jumlahnya atau komposisi yang dikonsumsi. Namun diperkirakan bahwa terdapat 13 miliar orang kelebihan berat badan atau obesitas dan banyak efek negatif yang ditimbulkan terutama terhadap kesehatan reproduksi baik pada wanita maupun pria (Ogbuji, 2010). Selain itu, terdapat kemungkinan efek yang berbeda dari MSG yang dikonsumsi secara langsung dengan MSG yang dicampurkan pada makanan. Penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh dari konsumsi diet tinggi lemak yang dikonsumsi dengan MSG terhadap sistem reproduksi tikus terutama pada pembuluh darah arteri maupun vena medula ovarium, tetapi masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan pengaruhnya terhadap manusia.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan Monosodium Glutamat (MSG) meningkatkan lebar diameter pembuluh darah arteri dan pembuluh darah vena medula ovarium tikus putih (*Rattus novergicus*).

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan lama paparan yang berbeda terhadap kombinasi diet tinggi lemak dan MSG.
2. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya tentang faktor-faktor yang mempengaruhi kongesti pembuluh darah ovarium seperti kadar LDL, TG, dan estrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi S., Rana R., Anjum K. 2016. Effect of Vitamin C on Monosodium Glutamate (Ajinomoto) Induced Changes in the Ovary of Rats. *JIMC*. 11 (2): 66-70.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*, Adabia Press, Jakarta, hal. 1-47.
- Alalwani, A.D. 2013. Monosodium Glutamate Induced Testicular Lesions in Rats (Histological Study). *Middle East Fertility Society Journal*. 19: 247-280.
- Al-Asmakh, M. 2007. Reproductive Function of Progesterone. *Middle East Fertility Society Journal*. 12 (3): 147-152.
- Ali A.A., El-Seify G.H., Haroun H.M., Soliman M.A. 2014. Effect of Monosodium Glutamate on the Ovaries of Adult Female Albino Rats and the Possible Protective Role of Green tea. *J Med*. 27: 793-800.
- Al-Mosaibih Mai. 2013. Effect of Monosodium Glutamate and Acrylamide on The Liver Tissue of Adult Wistar Rats. *Life Science Journal*. 10 (2): 35-43.
- Awasum C. A., Hassan A. Z., Remi-Adewumi B. D., Achiz C. R., Ibrahim N. D., Raoul D. K., *et al*. 2008. Neovascularisation of The Ovary Post Ligation of Ovarian Vessels in Bitches. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*. 7 (2): 7-9.
- Baad-Hansen L., Cairns B., Ernberg M., Svensson P. 2010. Effect of Systemic Monosodium Glutamate (MSG) on Headache and Pericranial Muscle Sensitivity. *Cephalalgia*. 30 (1): 68-76.
- Balasubramanian P., Jagannathan L.K., Subramanian M., Cilbreath E.T., Mohankumar P.S., Mohankumar M.J. 2015. High Fat Diet Affects Reproductive Functions in Female Diet Induced Obese and Dietary Resistant Rats. *J Neuroendocrinol*. 24 (5): 748-755.
- Bertolin T.E., Farias D., Guarienti C., Petry F.T.S., Colla L.M., Costa J.A.V. 2011. Antioxidant Effect of Phycocyanin on Oxidative Stress Induced with Monosodium Glutamate in Rats. *Brazil Arch. Biol. Technol*. 54 (4): 733-738.
- Bittles M. A. and Hoffer E. K. 2008. Gonadal Vein Embolization: Treatment of Varicocele and Pelvic Congestion Syndrome. *J Semin Intervent Radiol*. 25 (3): 261-270.
- Buettner, G. 2007. The Pecking Order of Free Radical and Antioxidant: Lipid Peroxidation, α -tocopherol, and Ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys*. 300 (2): 535-543.

- Byers S.L., Wiles M.V., Dunn S.L., Taft R.A. 2012. Mouse Estrous Cycle Identification Tool and Images. *Plos One*. 7 (4): 355-358.
- Collison K.S., Makhoul, N.J., Inglis A., Al-Joni M., Zaidi M.Z., Maqbool Z., Saleh S.M., *et al.* 2010. Dietary Trans-Fat Combined with Monosodium Glutamate Induces Dyslipidemia and Impairs Spatial Memory. *Physiology & Behavior*. 99 (3): 334-342.
- Cong L., Ying C., Liang-Lian W., Xiaoqiu X. 2015. Impact of High-Fat Environment on Ovarian Androgen Synthesis in Rats and the Associated Pathophysiological Changes. *Research in Obstetrics and Gynecology*. 3 (1): 8-12.
- Das R.S. and Ghosh S.K. 2010. Long Term Effects of Monosodium Glutamate on Spermatogenesis Following Neonatal Exposure in Albino Mice-A Histological Study. *Nepal Medical College Journal*. 12 (3): 149-153.
- Dolnikoff M., Martin-Hidalgo A., Machado U.F., Lima F.B., Herrera E. 2001. Decreased Lipolysis and Enhanced Glycerol and Glucose Utilization by Adipose Tissue Prior to Development of Obesity in Monosodium Glutamate (MSG) Treated Rats. *International Journal of Obesity*. 25 (3): 426-433.
- Dorland., 2008. *Kamus Kedokteran Dorland*, Edisi 28, EGC, Jakarta.
- El-Fattah A., Beltagy B.M., Elghawet H.A. 2016. Adverse effects of monosodium glutamate on the reproductive organs of adult Female albino rats and the possible ameliorated role of carob (*Ceratonia Siliqua*). Egypt. *J bioscience and Applied Research*. PP 170-184.
- Ellis, H. 2006. *Clinical Anatomy: Applied Anatomy for Student & Junior Doctors*, 11th Edition, Blackwell Publishing, USA.
- Eweka A.O., Eweka A., Om'iniabohs F.A. 2010. Histological Studies of the Effects of Monosodium Glutamate of the Fallopian Tubes of Adult Female Wistar Rats. *North American Journal of Medical Sciences*. 2 (3): 146-149.
- Eweka, A.O. and Om'iniabohs, F.A.E. 2011. Histological Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Ovaries of Adult Wistar Rats. *Annal of Medical & Health Sciences Research*. 1 (1): 37-44.
- Feng Li X., Lin Y.S., Kinsey-Jones J.S., O'Byrne K.T. 2012. High-Fat Diet Increases LH Pulse Frequency and Kisspeptin-Neurokinin B Expression in Puberty-Advanced Female Rats. *Endocrinology*. 153: 4422-4431.
- Geha, R.S., Beiser A., Ren C., Patterson R., Greenberger P.A., Grammer L.C., Ditto A.M. 2000. Review of Alleged Reaction to Monosodium Glutamate and Outcome of a Multicenter Double-Blind Placebo-Controlled Study. *The Journal of Nutrition*. 130 (4): 1058S-1062S.

- Greenstein B., and Bowman M.A. 2001. A Review of the Evidence for the Use of Phytoestrogens as Replacement for Traditional Estrogen Replacement Therapy. *ARCH INTERN MED.* 161: 1161-1171.
- Guyton A.C. and Hall J.E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 9, EGC, Jakarta.
- Hamed, S. 2009. *Serrio Biocamical Effects of Monosodium Glutamate on Wistar albino Rats*. Tesis. Diterbitkan, Department of Biochemistry Faculty of Veterinary Medicine University of Khartoum.
- Hanafiah, K., A. 2012. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Edisi ketiga. Jakarta: Raja Grafindo Pustaka.
- Handayani, D. 2012. *Prevention and Treatment of High Fat-Diet-Induced by Dietary Intake of Shitake and Oat*. Thesis. Tidak diterbitkan, Health and Behavioural Faculty, Wollogong.
- Hedrich H.J. 2006. Taxonomy and Stock and Strains. *J.Lab Rat.* 71-92.
- Heffner L.J. and Schust D.J., 2005. *At a Glance: Sistem Reproduksi*. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Heriansyah, T. 2013. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus novergicus* strain wistar) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala.* 13 (3):144-150.
- Hermanussen M. and Tresguerres, J.A.F. 2003. Does High Glutamate Intake Cause Obesity?. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism.* 16 (7): 965-968.
- Husarova, V. and Ostatnikova. 2013. Monosodium Glutamate Effects and Their Implications for Human Intake: A Review. *J Med.* 2013: 1-12.
- Junqueira L.C. and Carneiro J. 2007. *Histologi Dasar*, Edisi 10, EGC, Jakarta.
- Karelis A.D., Faraj M., Bastard J.P., St-Pierre D.H., Brochu M., Praud'Homme D., Lhoret R.R. 2005. The Metabolically Healthy but Obese Individual Presents a Favorable Inflammation Profile. *J Clin Endocrinol Metab.* 90 (7): 4145-4150.
- Katzung B.G. 2002. *Farmakologi: Dasar dan Klinik Buku 2*, Edisi 8, Salemba Medika, Jakarta, hal 612-641.
- Khaled F.A., Yousef M.I., Kamel K.I. 2015. The Protective Role of Propolis Against the Reproductive Toxicity of Mono-sodium Glutamine in Male Rabbits. *J Chemical Studies.* 4 (2): 04-09.
- Kim S.H. and Park M.J. 2012. Effect of Phytoestrogen on Sexual Development. The Korean Pediatrics Society. *Review Article.* 55 (8): 265-271.

- Kumar V., Cotran R.S., Robbins S.L. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins Volume 2*, Edisi 7, EGC, Jakarta, hal 366-382.
- Laboratorium Patologi Anatomi. 2017. *Prosedur Pengerjaan Preparat Histo Patologi*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Manuaba, I.B.G., Manuaba C.I.A., Manuaba F.I.B.G. 2007. *Pengantar Kuliah Obstetri*, EGC, Jakarta.
- Martini F.H., Nath J.L., Bartholomew E.F. 2012. *Fundamental of Anatomy & Physiology*, 9th ed., Benjamin Cummings, US.
- McNamara J.P. 2006. *Principles of Companion Animal Nutrition*. Upper Saddle River, Pearson Education, New Jersey.
- Megawati D., Sutarno., listyawati S. 2005. Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium Tikus Putih (*Rattus novergicus* L.) Setelah Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) secara Oral. *Biosmart*. 7 (1):47-52.
- Murwani S., Ali M., Muliarta K.2006. Diet Aterogenik pada Tikus Putih (*Rattus novergicus* Strain Wistar) sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 22 (1): 6-9.
- Mustafa S.J., Salih T.A., Yassen H.A., Marouf B.H., Mohammed A.I. 2015. Effect of Monosodium Glutamate on Mice Ovaries and the Possible Protective Role of Vitamin C. *Iraq J Bio-Sciences*. 2 (4): 2015.
- Nasr S.E., Elgendy M.S. Sayed S.S., Aly A.M. 2014. Histological Study of the Effect of Vitamin C on Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat Ovary. *The Egyptian Journal of Histology*. 35:562-570.
- Nazrun A.S., Khairunnur A., Norliza M., Ima N.S. 2008. Effect of Palm Tocotrienols on Oxidative Stress and Bone Strength in Ovariectomised Rats. *Med & Health*. 3 (2): 255-274.
- Nirmala, A. Reddy B.M., Reddy P.P. 2008. Genetic of Human Obesity: An Overview. *Int J Hum Genet*. 8 (1-2): 217-226.
- Notoadmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Oforofuol.C., Adebayo E.A., KuyeO.M. 2015. Effects of Monosodium Glutamate in Ovaries of Female Sprague-Dawley Rats Int. *J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 4 (5): 737-745.
- Ogbuji, Q.C. 2010. Obesity and Reproductive Performance in Women. *African Journal of Reproductive Health*. 14 (3): 143.
- Okhti Z. A., Al-Ezzi M., Abdulmahdi R. 2016. The Protective Role of Flaxseed Lignan in Male Rabbit with High-Fat Diet: Histopathological Study. *Int J Pharm Sci*. 8 (11): 90-94.

- Oladipo, I.C., Adebayo E.A., Kuye M.O. 2015. Effects of Monosodium Glutamate in Ovaries of Female Sprague-Dawley Rats. *J Microbiology and Applied Sciences*. PP 737-745.
- Rastini E.K., Widodo M.A., Rohman M.S. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) terhadap Aktivasi NF- κ B dan Ekspresi Protein (TNF- α , ICAM-1) pada Kultur Sel Endotel (HUVECs) Dipapar Ox-LDL. *J.Exp.Life Sci.* 1:8-55.
- Rises Kesehatan Dasar. 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Roman-Ramos, R., Almanza-Perez J.C., Garcia-Macedo R., Blances-Flores G., Fortis-Barrera A., Jasso E., Garcia-Lorenzana M., *et al.* 2011. Monosodium Glutamate Neonatal Intoxication Associated with Obesity in Adult Stage is Characterized by Chronic Inflammation and Increased mRNA Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in Mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 108 (6), 406-13.
- Ross, M.H. & Pawlina W. 2011. *Histology: a Text and Atlas: with Correlated Cell and Molecular Biology*, 6thed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Santoso, I.E. 2011. *Buku Ajar Etik Penelitian Kesehatan*, Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Sargowo, D. 2003. *Disfungsi Endotel pada Penyakit Kardiovaskuler*, Bina Pustaka, Malang, hal 1-151.
- Savcheniuk O.A., Virchenko O.V., Falalyeyeva T.M., Beregova T.V., Pabenko L.P., Lazarenko L.M., Damchenko O.M., *et al.* 2014. The Efficacy of Probiotics for Monosodium Glutamate-Induced Obesity: Dietology Concerns and Opportunities for Prevention. *J EPMA*. 5:2.
- Sharma V., and Deshmukh R. 2015. Ajinomoto (MSG): A Fifth Taste or a Bio Bomb. *J Pharmaceutical*. 2 (2): 381-400.
- Sibernagi S., and Lang F. 2006. *Teks dan Atlas Berwarna Patofisiologi*. EGC. Jakarta, hal 236-239, 276-277.
- Singh, A.K. 2008. *Anatomy and Physiology for Paramedicals*, Jaypee Brothers Medical Publishers, India.
- Sohrabi M., Roushandeh A.M., Alizadeh Z., Vahidinia A., Vahabian M., Hossein M. 2015. Effect of a High Fat Diet on Ovary Morphology, In Vitro Development, In Vitro Fertilisation Rate and Oocyte Quality in Mice. *J Med*. 56: 537-579.
- Soulis G., Kitraki E., Gerozissis K. 2005. Early Neuroendocrine Alterations in Female Rats Following a Diet Moderately Enriched in Fat. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 25 (5): 869–880.

- Srivastava R.A.K., Srivastava N., Averna M. 2000. Dietary Cholic Acid Lower Plasma Levels of Mouse and Human Apolipoprotein A-I Primarily Via Transcriptional Mechanism. *Eur.J.Biochem.* 267 (13):4272-4280.
- Stemmer K., Tilve D.P., Ananthakrishnan G., Bort A., Seeley R.J., Tschop M.T., Dietrich D.R. 2012. High-Fat-Diet Induced Obesity Causes an Inflammatory and Tumor-Promoting Microenvironment in the Rat Kidney. *Disease Models & Mechanisms.* 5: 627-635.
- Suckow M.A., and Weisbroth S.H. 2006. *The Laboratory Rat*, Cataloging in Publication Data, UK.
- Supriyono, M. 2008. *Faktor-Faktor Risiko yang Berpengaruh terhadap Kejadian Penyakit Jantung Koroner pada kelompok Usia < 45 Tahun*. Tesis. Tidak diterbitkan, Program Pasca Sarjana-Magister Epidemiologi Universitas Diponegoro, Semarang.
- Tamer E.C., and Sentruck L.M. 2009. The Impact of Body Mass Index on Assisted Reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology.* 21 (3): 228-235.
- Tsalissavrina I., Wahono D., Handayani D. 2006. Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar Trigliserida dan HDL Darah Pada Rattus novergicus Galur Wistar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya.* 22 (22): 80-89.
- Uke, Y.S. 2008. Efek Toksik Monosodium Glutamat (MSG) pada Binatang Percobaan. *Sutisning.* 3 (2):306- 314.
- Walker H.W. and Cheng J. 2005. FSH and Testosterone Signaling in Sertoli Cells. *Reproduction.* 130 (1):15-28.
- Walls A.B., Waagepetersen H., Bak L.K., Schousboe A., Sonnewald U. 2015. The Glutamine-Glutamate/GABA Cycle: Function, Regional Differences in Glutamate and GABA Production and Effects of Interference with GABA Metabolism. *J Neurochem.* 40 (2):402-409.
- Widiartini W., Siswati E., Setiyawati A., Rohmah, I.M., Prasetyo E. 2013. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus novergicus) Tersertifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium, (online), (<http://artikel.dikti.go.id/index.php/PKMK/article/download/149/150> , diakses 10Mei 2017).
- World Helath Organization, 2016. *Obesity and Overweight.* (online), (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>, diakses9 Desember 2016).
- Zachary J. F. Dan McGavin M. D. 2012. *Pathologic Basic of Veterinary Disease*, Edisi 7, Elsevier Inc, St. Louis Missouri, hal 60-72.

Zhou Q., Chen H., Yang S., Lia Y., Wang B., Chen Y., Wu X. 2014. High-Fat Diet Decreases the Expression of Kiss 1 mRNA and Kisspeptin in the Ovary, and Increases Ovulatory Dysfunction in Post Pubertal Female Rats. *J Reproductive Biology and Endocrinology*. 12: 112-127.

